

Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

DIE ENTWICKLUNG DER GLANDULA SUBMANDIBULARIS

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen an pränatalen
und frühen postnatalen Stadien bei der Maus**

**Inaugural-Dissertation
zur**

**Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von
Reinhard Möller
aus Hamburg

1975

Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

DIE ENTWICKLUNG DER GLANDULA SUBMANDIBULARIS

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen an pränatalen
und frühen postnatalen Stadien bei der Maus**



Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reinhard Möller
aus Hamburg

Referent: Prof. Dr. H. J. Merker

Korreferent: Prof. Dr. W. Schwarz



Gedruckt mit der Genehmigung

der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 28. 4. 1975

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	Seite	1
2.	Material und Methoden	"	9
3.	Befunde	"	11
3.1	13. Gestationstag	"	11
3.2	15. Gestationstag	"	19
3.3	17. Gestationstag	"	25
3.4	6 Stunden post partum	"	28
3.5	5 Tage post partum	"	35
4.	Diskussion	"	37
5.	Zusammenfassung	"	55
6.	Literaturverzeichnis	"	57

1. Einleitung

Erste Untersuchungen über die Entwicklung der drei großen Speicheldrüsen, Glandula sublingualis, Glandula submandibularis (submaxillaris) und Glandula parotis gehen zurück auf CHIEWITZ, FLINT und MORAL (CHIEWITZ 1855, FLINT 1903, MORAL 1903, 1915/16, beim Menschen, sowie Hase, Schwein und Maus).

Alle drei Drüsen entstehen als epitheliale Sprosse der primitiven Mundhöhle in das darunterliegende Bindegewebe. Glandula sublingualis und Glandula submandibularis wachsen vom sulcus alveolingualis aus in die Tiefe und nach lateral; die Glandula parotis entstammt dem sulcus buccalis und wächst in dorsaler Richtung. CHIEWITZ und MORAL fanden, daß die drei großen Speicheldrüsen bei der Maus in folgender Reihenfolge angelegt werden. Glandula submandibularis bei 19 mm, Glandula parotis bei 20 mm und Glandula sublingualis bei 21 mm Scheitel-Steiß Länge. Beim Menschen und bei der Ratte (POSPISILOVA 1970), hingegen, entwickeln sich die Drüsen in der Reihenfolge Glandula parotis, Glandula submandibularis,

Glandula sublingualis.

Bei Ratte und Maus werden Glandula submandibularis und Glandula sublingualis von einem gemeinsamen Bindegewebsmantel umhüllt, wobei die Glandula sublingualis einschließlich ihres Ausführungsganges lateral von der Glandula submandibularis gelegen ist (die Glandula sublingualis wird auf Grund dieser Nachbarschaft bei den Befunden gelegentlich miterwähnt). Ein solider Epithelstrang treibt ein sich mehr und mehr verzweigendes Gangsystem in ein sehr dichtes Bindegewebsblastem, das sich schalenartig um die sich zunehmend verdichtenden "Parenchymbäume" anzuordnen beginnt und in Septen verschiedener Ordnung zwischen die Epithelanlagen einschneidet. Mit dem Wachstum der Drüse nimmt die Dichte des umgebenden Bindegewebes ab.

FLINT erkannte, daß sich die Entwicklung des Drüsenepithels nicht autonom vollzieht, sondern vielmehr eine innige Wechselwirkung zwischen Epithel und Bindegewebe besteht - zunächst nur mechanischer Natur; FLINT schrieb dem Drüsenbindegewebe Platzhalterfunktion zu.

Der Begriff "Histion" wurde erst von LETTERER (1959) eingeführt und beschreibt die Funktionseinheit von epithelialen Zellverbänden und den dazugehörigen Bindegewebsanteilen. Zur weiteren Untersuchung dieses Abhängigkeits- und Wechselwirkungsprinzips war das Studium der Speicheldrüsenmorphogenese recht geeignet, da das Material auch in frühen Entwicklungsstadien präparatorisch recht gut erreichbar war. Mit der Entwicklung von geeigneten Nährmedien zur in vitro Züchtung von Drüsenexplantaten in Zellkultur eröffneten sich neue Möglichkeiten.

Untersuchungen über die Morphogenese von Speicheldrüsen in Gewebekultur haben einige Charakteristika der Wechselwirkung zwischen Epithel und Bindegewebe aufgedeckt. BORGHESE (1950) konnte - nach vorherigen Vergleichsstudien der in vivo und in vitro Entwicklung - an Explantaten der Glandula submandibularis zeigen, daß Kapselbindegewebe einen Differenzierungsreiz auf das Drüsenepithel ausübt; denn er hatte beobachtet, daß ohne Bindegewebe nur ein diffuses Epithelwachstum möglich war. Außerdem ließ sich in frühen Entwicklungsstadien, in denen das Drüsenparenchym erst einen Teil der Bindegewebskapsel okupiert hatte, durch Abtragung von Kapselmateriel eine besonders ausgeprägte Entwicklungsretardierung hervorrufen.

GROBSTEIN (1953) entdeckte bei seinen in vitro Versuchen, daß gewöhnliches Bindegewebe eines dreizehn-tägigen Embryos ebenso wie hitze- oder kältegetötetes Kapselbindegewebe die Eigenschaft hatte, das diffuse "Ausfließen" des wachsenden Epithels zu verhindern, ohne jedoch typisches Drüsenwachstum zu ermöglichen. Regelrechte Morphogenese ergab sich nur bei engem Kontakt des Drüsenepithels mit Kapselbindegewebe, nicht jedoch, wenn beliebiges Bindegewebe verwandt wurde.

Neben diesem Hinweis auf eine gewisse Spezifität der Kapsel konnte GROBSTEIN zeigen, daß von Epithel getrennt in Kultur gebrachtes Kapselbindegewebe im Laufe von zwei Wochen seine morphogenetischen "Fähigkeiten" allmählich verlor, daß also auch das Epithel prägenden Einfluß auf das Bindegewebe ausübte.

Untersuchungen von GROBSTEIN und COHEN (1965) schrieben darüberhinaus dem Kollagen eine formgebende Rolle zu. Gleichgültig, ob durch einen Membranfilter getrennt oder nicht, erreichte Kollagen von den Zellen der Bindegewebskapsel die epitheliale Basalmembran, wurde also erst an seinem Bestimmungsort aggregiert. Aus den Beobachtungen vermehrter Kollagenablagerung schon in frühen Entwicklungsstadien um den Epithelstiel -

den präsumptiven Hauptausführungsgang -, im Bereich der Endknospen, vorwiegend jedoch in den Furchen zwischen den Knospen, erwuchs die Vorstellung von einer "morphogenetischen Zwangsjacke".

Kollagenasegabe zu Drüsenkulturen führte mit einer Verzögerung von vierundzwanzig Stunden zum völligen Abflachen des Explantats; sämtliche größeren Furchen verstrichen.

Neuere Untersuchungen über die Wirkung des Bindegewebes auf embryonales Speicheldrüsenepithel wurden durch die Entdeckung der Cytochalasine (TURNER 1964) angeregt. Die Eigenschaft der Chemikalie Cytochalasin B, morphogenetische Prozesse reversibel zu hemmen, wahrscheinlich durch Hemmung kontraktile Zellelemente -erstmals beschrieben von SCHROEDER (1970) am "kontraktilen Ring" von HELA-Zellen während der Zytokinese - gab die Möglichkeit, strukturprägenden Organzellen auf die Spur zu kommen.

Mehrere in vitro Untersuchungen der Arbeitsgruppe um SPOONER und WESSELLS (SPOONER, WESSELLS 1970; SPOONER, YAMADA, WESSELLS 1971; WESSELLS, SPOONER, ASH, BRADLY LUDUENA, TAYLOR, WRENN, YAMADA 1971; SPOONER, WESSELLS 1972) führten zu der Annahme, daß Cytochalasin B sensitive, 50 Å dicke Mikrofilamente eine entscheidende

Funktion haben bei vielen die Zellgestalt ändernden Prozessen. Auf Mikrotubuli, die bei der Linsenentwicklung eine Rolle spielen (BYERS, PORTER 1964), sowie beim Axonwachstum (YAMADA, SPOONER, WESSELLS 1970) war Cytochalasin B wirkungslos.

SPOONER und WESSELLS halten es für wahrscheinlich, daß bei der Furchenbildung im Speicheldrüsenepithel - Ausgangsstadien für eine Verzweigungsbildung - Anordnungen von 50 Å Mikrofilamenten, die entlang der Zellbasis sowie dem Apex verlaufen und zwischen Zellkontaktstellen (gap- und tight junctions) ausgespannt sind, durch Kontraktion mitwirken und daß nachfolgend die Furchen durch Kollageneinlagerung stabilisiert werden (vergleiche oben genannte Arbeit von GROBSTEIN und COHEN). Deshalb konnten sie nach Cytochalasin B Gaben in den Drüsenexplantaten nur ein Verstreichen junger Furchen beobachten.

Die Vorstellung über die Wirkungsweise des Cytochalasin B von SCHROEDER sowie der Arbeitsgruppe um SPOONER und WESSELLS wurden von CARTER (1972) als voreilige Hypothese zurückgewiesen, da seine sowie die Untersuchungen von BLUEMINK (1971) bei sogar höheren Cytochalasinkonzentrationen zu keinen entsprechenden Effekten führten. Er ist daher mit ESTENSEN et al. (1971) der Meinung, daß das Penetrationsvermögen der

Cytochalasine in die Zelle, sowie deren Bindung an spezifische Strukturen nachgewiesen sein muß, bevor weitere Schlüsse gezogen werden können.

Untersuchungen von LAWSON (1972) an Drüsenexplantaten weisen darauf hin, daß das Kapselbindegewebe für den spezifischen Aufbau der jeweiligen Drüse verantwortlich ist, denn bei reziprokem Austausch des Bindegewebes entwickelt sich Parotisepithel submandibularis gemäß (statt monopodiale, dichotome Verzweigungsmuster) und umgekehrt.

Außerdem besteht eine direkte Proportionalität zwischen Bindegewebsmasse und Wachstumsrate; der Effekt ist bei isogenetischem Material größer, als bei heterogenetischem - ein weiterer Beweis für die Spezifität des Bindegewebes. Auf die Zytodifferenzierung scheint das Bindegewebe hingegen keinen Einfluß zu haben.

Die erstgenannten lichtmikroskopischen Arbeiten und die nachfolgend beschriebenen vielfältigen licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Drüsenexplantaten sollen in der folgenden Arbeit durch elektronenmikroskopische Befunde an in vivo Präparaten ergänzt und die aufgezeigten Probleme soweit möglich diskutiert werden. Dabei soll nicht nur auf die äußere Gestaltentwicklung der hier ausgewählten

Glandula submandibularis eingegangen werden, sondern auch die lichtmikroskopischen Ergebnisse zur Zytodifferenzierung durch entsprechende elektronenoptische Befunde ergänzt werden, um damit einige Kriterien für den zeitlichen Reifungsprozeß hinsichtlich der spezifischen Drüsenfunktion zu erhalten. Darüber hinaus kann die Darstellung der Normalentwicklung eine Grundlage bieten für die Untersuchung teratogen wirkender Substanzen durch die Arbeitsgruppe für Embryonalpharmakologie.

2. Material und Methoden

Untersucht wurden Albino Mäuse des Stammes NMRI, die unter üblichen Standardbedingungen gehalten waren. Die Verpaarung der Tiere erfolgte zwischen 7,30 und 9,30 Uhr. Da mindestens 80 % der Muttertiere gegen 8,00 Uhr spermienpositiv sind, gelten die folgenden 24 Stunden als Tag 0. Der Geburtstag gilt als Tag 0 der Nachgeburtsperiode.

Untersucht wurden 13, 15 und 17-tägige Embryonen, sowie Jungtiere 6 Stunden und 5 Tage nach der Geburt. Muttertiere und Jungtiere wurden im Ätherrausch getötet, die Embryonen aus dem Uterus befreit und jeweils der Unterkiefer mit vorderer Halsregion bis zur oberen Brustkorbapertur exzidiert und sofort in kalte Fixierlösung gebracht. Die Fixierlösung hatte stets dieselbe Zusammensetzung

(3 g Paraformaldehyd in 40 ml H_2O unter NaOH Zugabe gelöst, 30 ml Glutaraldehyd dest. ca 11 %ig, 30 ml 2/10 mol Cacodylatpuffer pH 7,2-7,4 , 50 mg $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$ nach KARNOVSKY 1967).

Nach mindestens einstündiger Fixierung erfolgte eine gewöhnlich zweistündige Nachfixierung in einer 1%igen 0,1 mol Cacodylat gepufferten Osmiumsäurelösung, sowie anschließende Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe und Einbettung in Mikropal.

Die Schnitte wurden an LKB- und Reichertmikrotomen hergestellt. Zur Vororientierung in den Unterkiefern wurden 0,1 - 1 μ dicke Schnitte angefertigt, die sich nach Färbung mit 1%iger wässriger Giemsa=lösung mit Boraxzusatz (mehrmaliges kurzes Erwärmen bis zur Dampfentwicklung) lichtmikroskopisch gut beurteilen ließen. Auf diese Weise konnte der Ausführungsgang der Glandula submandibularis bis zu seinem Eintritt in die Drüsenanlage verfolgt und die Glandula sublingualis von der Glandula submandibularis abgetrennt werden.

Die etwa 500 Å dicken Schnitte für die elektronenoptische Untersuchung wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Aufnahmen wurden an Siemens-Elmiskopen I, Ia hergestellt mit einer Primärvergrößerung von 700 - 40000 bei einer Strahlspannung von 80 kV. Die Auswertung erfolgte auf Positiven mit 3 1/2 facher Vergrößerung. Zur quantitativen Auswertung des Epithel-, Bindegewebs-, Gefäßverhältnisses im untersuchten Entwicklungszeitraum wurden bis auf den 13. Gestationstag (5) je 10 Positive mit 2450 x Gesamtvergrößerung unter einem 44-Punkteraster ausgewertet (Mittelwert und Standardabweichung) und die prozentuale Gewebsverteilung (44 Punkte entsprechen 100 % Gewebsvolumen) gegen die Zeit aufgetragen.

3. Befunde

3.1 13. Gestationstag

Das elektronenmikroskopische Bild des quergetroffenen Epithelstiels - hiermit ist derjenige Teil der epithelialen Anlage gemeint, der dem Epithelzapfen des 12. Tages entspricht und später zum Hauptausführungsgang wird - zeigt einen nahezu kreisförmigen Querschnitt von etwa 50 μ Durchmesser, mit einem verhältnismäßig lockeren Zellverband. Zwei-, drei- oder vierzipflige Interzellularlücken sind gleichmäßig über die Schnittebene verteilt, reichen jedoch nur selten bis zur Peripherie.

Die Zellkerne haben eine vorwiegend längs- bis rund-ovale, mitunter gebuchtete Gestalt und sind gekennzeichnet durch ein bis drei große und häufig zusätzlich einige kleinere, polymorphe Nukleolen, die membran- sowie mittelständig angetroffen werden. Die äußere Kernreihe läßt zum Teil eine radiäre Ausrichtung erkennen, jedoch besteht kein allgemeines Ordnungsprinzip. Mitosen, vorwiegend an der Peripherie, aber auch im Zentrum der Epithelanlage, weisen auf ein appositionelles, aber auch itussuszeptionelles Wachstum. Membranen benachbarter Epithelzellen liegen einander dicht an (etwa 100 Å) und nehmen einen gestreckten Verlauf, ohne jegliche Verzahnung in

einander, zeigen jedoch eine Kette von "gap junctions" sowie Desmosomen. Einige spindelartige Erweiterungen des Interzellularspaltes werden im Verlauf zweier benachbarter Membranen gefunden. Dort, wo drei oder vier Zellen zusammenstoßen, öffnet sich der Interzellularspalt zu einem Triangel oder Viereck. In diese größeren Lücken entsendet jede anliegende Zelle einen, bisweilen mehrere, villöse Fortsätze von etwa $0,1 \mu$ Dicke und bis $0,7 \mu$ Länge. Häufig werden vierzipflige Interzellularlücken dadurch unterbrochen, daß eine Zelle einen zu schmaler Zunge abgeflachten Fortsatz an die ihr gegenüberliegende Zelle heranlegt oder zwei gegenüberliegende Zellen mit je einem Fortsatz stumpf auf einander stoßen.

In nächster Nähe der Basalmenbran, die die epitheliale Anlage als kontinuierliches Band umgibt, werden keine besonderen Zellkontakte gefunden; der Interzellularraum wird somit nur durch die Basalmembran vom umgebenden Bindegewebsraum getrennt. Zwischen Zellbasis und Basalmembran sind häufig breite Zellfortsätze eingeschoben, jedoch auch feine (bis hinab zu $0,1 \mu$ Dicke).

Bei stärkerer Vergrößerung fällt im Zytoplasma der Epithelzellen ein besonderer Reichtum an Polysomen

auf. Rosetten und kurze, geschlängelte Ketten aus meist vier bis fünf Ribosomen sind gleichmäßig über das Zytoplasma verteilt. Es werden bereits einige kurze Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums angetroffen. Ihre begrenzenden Membranen sind vorwiegend mit Ribosomen besetzt, zeigen aber auch glattwandige Abschnitte und umschließen Hohlräume von 450-500 Å Breite und 0,1-1,5 µ Länge. Selten deuten sich Verzweigungen an. Bis zu 15 Mitochondrien (0,1-0,3 µ breit und bis 2 µ lang) können pro Zellquerschnitt gezählt werden. Sie liegen in Gruppen beisammen, oder sind gleichmäßig über das Zytoplasma verteilt, fast ausschließlich in der Nachbarschaft des rauhen endoplasmatischen Retikulums. Nur im äußersten Zellkranz sind rauhes endoplasmatisches Retikulum und Mitochondrien auf den basalen Zellpol konzentriert. Vereinzelt werden Golgilamellen- vier bis fünf Doppellamellen übereinander- und Golgivesikel in Kernnähe beobachtet. Die längsovalen Zellkerne sind von einem deutlichen perinuklearen Raum umgeben, zeigen ein schaumig, flockiges Chromatin und ihre meist gut abgrenzbaren Nukleolen -größere von 1 µ, kleinere von 0,4 µ Durchmesser- haben eine abgerundete Gestalt.

Am 13. Entwicklungstag erweitert sich der Epithelstiel in eine Endknospe; diese zeichnet sich durch Furchungen aus, die die beginnende Verzweigung der Epithelknospe ankündigen. Im Bereich dieser Furchen ist die Basis der Epithelzellen im Vergleich zum sonst leicht gewellten Verlauf stark gefaltet. Die Basalmembran, die sich durch eine lamina densa (eigentliche Basalmembran) und eine elektronendurchlässigere lamina rara interna auszeichnet - letztere zwischen lamina densa und Zellbasis gelegen - entfernt sich in der Tiefe der Furchen mehrfach schlingenartig von der Zellmembran. Die Basalmembran ist streckenweise verstärkt von einem "Band", bestehend aus einem feinen filamentären Maschenwerk. In häufig von nur zwei Epithelzellen umschlossenen Nischen wird das filamentäre Material (Kollagen) ebenfalls gehäuft angetroffen.

Die Bindegewebskapsel läßt sich durch ihre Zelldichte deutlich gegen das umgebende Bindegewebe abgrenzen.

Am 13. Gestationstag zeigt die Kapsel (im Übersichtsbild) ihrerseits zwei gegeneinander abgrenzbare Bezirke, einen inneren, dessen Zelldichte die der epithelialen Anlage sogar noch übertrifft und sich durch Kernpolymorphie sowie hohe Teilungsaktivität gegenüber einem äußeren Bezirk auszeichnet, der - bestehend aus langgestreckten Fibroblasten - den inneren Bezirk sowie die epitheliale Anlage schalenartig umgibt und reich ist an erythroblastenerfüllten Kapillaren. Axonbündel werden in beiden Bezirken mehrfach angetroffen.

Die Zellen des inneren Bezirks unterscheiden sich hinsichtlich ihres Polysomenreichtums nicht von den Epithelzellen. Auch die scharf begrenzten Nukleoli ihrer polymorphen, teils rund-, teils längsovalen gelegentlich ein- bis mehrfach gebuchteten Kerne sind mit denen des Epithels vergleichbar. Vielfältige Struktur zeigt das Chromatin; es ist feinkörnig oder grobkörnig, bis feinschollig. Perinukleärer Raum und Kernporen stellen sich gut dar. Hinsichtlich der Anzahl ihrer Mitochondrien - diese treten meist in einem Zytoplasmabezirk gehäuft auf - sind die Zellen des inneren Kapselbezirks den Epithelzellen durchaus ebenbürtig. Das rauhe endoplasmatische Retikulum des Bindegewebes ist hingegen

weiter entwickelt. Viele Verzweigungen und Endauf=treibungen kennzeichnen die 600 - 900 Å dicken Schläuche. Ihr Ribosomenbesatz ist nicht kontinuierlich; gelegentlich werden sogar überwiegend glatte Membranen beobachtet. Verschiedentlich werden zum Teil mit Ribosomen besetzte Vesikel des endoplasmatischen Retikulums (0,25 - 0,3 µ Durchmesser) angetroffen.

Ein kernnaher Golgi-Apparat ist häufig gut entwickelt. In seiner unmittelbaren Nähe können Granula und Vesikel unterschieden werden. Die ersten besitzen etwa einen Durchmesser von 250 - 350 Å, sind relativ elektronendicht und in sich homogen, die zweiten besitzen einen größeren Durchmesser (470 - 950 Å) und zeichnen sich durch ein liches Zentrum aus, das von einem schmalen elektronendichteren Saum umgeben wird, der der Vesikelmembran eng anliegt. Die kleinen dichten Granula sind vorwiegend in Nachbarschaft der Golgilamellen zu finden und vor der konkaven Seite des etwa vier Doppellamellen umfassenden Stapels bis hin zur Zellmembran. Vesikel werden hingegen auch in den Zellausläufern angetroffen und sind dort mit Mikropinozytoseprozessen in Verbindung zu bringen; denn in einigen Fällen lassen sich Stadien beobachten, in denen die Vesikel in die Zellmembran eingebaut werden und sich in den

Interzellularräum öffnen. In einigen Interzellularräumen sind Bündel von Mikrofilamenten (Durchmesser 110 - 170 Å) zu finden, meist in der Nähe der Zellwände. Der Zellverband des dichtgepackten inneren Bezirkes ähnelt dem elektronenmikroskopischen Bild des Epithels. Die Bindegewebszellen werden durch einen etwa 200 Å breiten Spaltraum voneinander getrennt und geben zumeist nur dort Raum für Interzellularräumen, wo mehrere Zellen zusammenstoßen. Zahlreiche Zellfortsätze, deren Durchmesser zwischen 0,16 und 0,64 µ variiert, füllen diese Lücken fast vollständig aus. Der innere Kapselbezirk bildet daher einen dichten Zellverband.

Der äußere Kapselbezirk ist durch langgestreckte Zellen, sowie relativ weite (meist 1 µ, jedoch bis zu 3 µ) und langgestreckte (bis zu 15 µ) Interzellularräume gekennzeichnet, so daß die Fibroblasten lediglich über Strecken von 4 µ durch einen 100 Å breiten Spalt voneinander getrennt sind. Die Zellen ordnen sich entlang Spannungslinien konzentrisch in etwa 15 Zellagen um die wachsende epitheliale Anlage und den inneren Kapselbezirk. Zwischen 0,14 µ und 0,7 µ messende Zellfortsatzquerschnitte erfüllen vereinzelt die weiten Interzellularspalten. Der äußere Kapselbezirk zeigt eine lockerere Quervernetzung

als der innere. Die Feinstruktur der Zellen unterscheidet sich außer durch einen größeren Reichtum des rauhen endoplasmatischen Retikulums nicht von der des inneren Bezirkes. Die Zellkerne sind vorwiegend langgestreckt (etwa 3 μ breit und bis 14 μ lang).

Gefäßanschnitte finden sich in diesem Entwicklungsstadium nur in einiger Entfernung von der epithelialen Anlage, nämlich vorwiegend im äußeren Kapselbezirk und an der Grenze zum inneren Kapselbezirk. Die Endothelzellen zeigen Kerne mit deutlichem perinukleären Raum, flockig-körnigem Chromatin und vergleichsweise kleinem membranständigen Nukleolus. Ihr Zytoplasma zeigt eine den Bindegewebszellen ähnliche Feinstruktur mit Polysomenreichtum, einigen Mitochondrien, jedoch relativ spärlich Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums. Eine noch nicht lückenlose Basalmembran umzieht das Endothel. Marklose Nerven finden sich in diesem Entwicklungsstadium recht häufig. Bündel von etwa 30 zwischen 0,24 μ und 1,4 μ dicken Axonen werden meist im Verlauf der Gefäße gefunden und fallen auf durch ihre geringe Elektronendichte und feingranuläre bis feinmaschige Ultrastruktur.

Die dicht an die Axone angelagerten Zellen können nicht eindeutig Schwann-Zellen genannt werden, da sie nicht durch eine Basalmembran gekennzeichnet sind (RUSKELL 1968).

Intraepitheliale Nervenendungen konnten am 13. Gestationstag nicht beobachtet werden.

3.2 15. Gestationstag

Am 15. Gestationstag zeigt der Drüsenkörper bereits mehrere dichotome Verzweigungen, die distal (x) in Endknospen münden. Teilweise haben die Epithelstränge bereits ein Lumen erhalten, um das die anliegenden Zellen konzentrisch geordnet sind. In unmittelbarer Nähe ihres Lumens, in das Mikrovilli von 850 Å Durchmesser und bis 0,24 µ Länge hineinragen, sind die Zellen durch Schlußleisten miteinander verknüpft. Zwischen den Zellen der bereits eröffneten Epithelstränge bestehen nur wenige Interzellularlücken (bis 1 µ Durchmesser) entweder als spindelige Erweiterungen zwischen zwei benachbarten Zellwänden oder unregelmäßig begrenzt dort, wo mehrere Zellen zusammenstoßen. Ähnlich wie beim 13-tägigen Embryo ragen Mikrovilli (0,06µ dick und bis 0,6 µ lang) in diese Lücken. Auch Zahl und Ent=

(x) Bei der Verwendung der Termini "distal" und "proximal" dient jeweils das mundhöhlenseitige Ende des Hauptausführungsganges als Bezugsort.

wicklung der Zellorganellen gleichen dem früheren Stadium.

"Junge" Zellen, die an der Peripherie der Epithelsprosse entstehen und weitere Verzweigungen ankündigen, unterscheiden sich durch ihren relativ geringen Polysomengehalt und dadurch größere Transparenz von älteren, weiter zentral gelegenen Zellen. Die Basalmembran wird durch ein feinmaschiges lockeres Material um etwa $0,36 \mu$ verbreitert. Furchen zwischen zwei epithelialen Knospen sind von diesem Material völlig ausgefüllt; sie werden häufig durch Bindegewebsfortsätze gestützt.

Im Bereich der Wachstumsknospen zeigen innere und peripher angeordnete Epithelzellen gewisse Unterschiede. Die inneren Zellen haben bizarre Gestalt, sind häufig nur punktförmig durch Desmosomen miteinander verknüpft und umschließen Interzellularlücken, ähnlich denen des Epithelstiels am 13. Gestationstag. Die äußere Zellreihe ist dagegen verhältnismäßig dicht gepackt. Hier erweitern sich $200 \text{ \AA}$ breite Interzellularspalten gelegentlich spindelförmig bis auf $0,25 \mu$. In diese entsenden die Zellen stummelförmige Mikrovilli. Die Kerne der inneren Zellen zeigen häufig einen gebuchteten Umriß,

lebhaftes Chromatinstruktur, sowie große Nukleolen (bis $1,4 \mu$) und sind kleiner ($2,5 \mu$ breit und bis 7μ lang) als die peripher gelegenen Kerne ($3,5 \mu$ breit und bis 8μ lang), die sich durch homogenes Euchromatin, ebenmäßige Konturen und gleichfalls große Nukleolen auszeichnen.

Gelegentlich reichen peripher gelegene Zellen, deren Kerne basal gelegen sind und eine radiäre Ausrichtung zeigen, mit einem plumpen Fortsatz um eine Zellbreite in die Epithelknospe hinein, während andere mit einem entsprechenden Fortsatz an die Basalmembran heranreichen und ihr Kern um eine Zellbreite von der Basis getrennt liegt.

Am 15. Gestationstag hat sich der Drüsenkörper weiter von der Mundhöhle entfernt und steht mit ihr lediglich durch einen Epithelstiel von etwa 30μ Durchmesser in Verbindung - der Hauptausführungsganganlage. Ihr parallel - nur durch einen 8μ breiten Bindegewebsraum getrennt - verläuft der Epithelstiel der Glandula sublingualis (25μ Durchmesser). Beide sind zirkulär von jeweils drei Zelllagen Bindegewebe umgeben, denen ein bis zwei äußere Lagen folgen, die beide Ausführungsganganlagen sowie die mitgeführten Gefäße und Nerven umschließen.

Die Hauptausführungsganganlage der Glandula submandibularis - im weiteren einfach als Hauptausführungsgang bezeichnet - zeigt vier Zellen pro Querdurchmesser (Zweischichtung) und zentral bereits eine kleine Lichtung ($1 - 2 \mu$), die zum Interzellularraum durch ein deutliches Schlußleistennetz abgegrenzt ist und sich lediglich in einzelne $0,2 \mu$ weite Interzellularkanäle öffnet. In die Lichtungen des Hauptausführungsganges sowie der Interzellularkanäle ragen zahlreiche Mikrovilli von $0,07 \mu$ Durchmesser und bis $0,18 \mu$ Länge. Gegenüber dem Entwicklungsstadium am 13. Gestationstag ist der Epithelzellverband des Hauptausführungsganges am 15. Tag wesentlich dichter und zeigt nur wenige Interzellularlücken mit hineinragenden villösen Fortsätzen. Benachbarte Zellmembranen sind in Lumennähe häufig quer zur Verlaufsrichtung des Interzellularspaltes S-förmig miteinander verzahnt. Die Zellen zeigen meist in Kernnähe eine Glykogeneinlagerung (bis $0,4 \mu$ Durchmesser).

Die Bindegewebskapsel des Hauptausführungsganges (15. Tag) ist in ihrem Aufbau vergleichbar mit dem äußeren Kapselbezirk der Drüsenanlage am 13. Tag. Langgestreckte spindelförmige Fibroblasten mit langen

(in der Schnittebene bis $13\ \mu$ vom Kernpol bis zur Fortsatzspitze), schlanken Fortsätzen, von denen nicht mehr als zwei einander entgegengesetzte in einer Ebene getroffen werden, umschließen zirkulär das Epithel. Dieses wird von einer kontinuierlichen Basalmembran umgeben, deren lamina densa durch lockeres Maschenwerk von basalmembranähnlichem Material überlagert wird (etwa $0,12\ \mu$) und damit bis an die nächstliegenden Bindegewebszellen heranreicht. Die Interzellularlücken der Bindegewebskapsel erscheinen ein wenig weiter (häufig $1,4\ \mu$, jedoch bis $1,7\ \mu$) verglichen mit denen des äußeren Kapselbezirktes am 13. Tag; bis zu zwanzig quergetroffene Fortsätze liegen in den langgestreckten Interzellularräumen der Kapsel. Die Ultrastruktur der Bindegewebszellen entspricht derjenigen vom äußeren Kapselbereich am 13. Tag.

Am 15. Gestationstag werden Kapillaranschnitte in unmittelbarer Nähe der Epithelstränge getroffen - geradezu auffällig häufig an Furchen angelagert oder in diese eingebettet. Dabei zeigen die anliegenden Epithelzellwände meist starke Auffaltungen mit schlingenartiger Ablösung der Basalmembran. Die Endothelzellen enthalten reichlich Polysomen und viele Mitochondrien, dagegen ein gering entwickeltes

rauhes endoplasmatisches Retikulum, das mit der Lieferung von Basalmembranmaterial begonnen hat. Bündel von Axonen (bis $0,43 \mu$ dick) werden in unmittelbarer Nähe der Kapillaren getroffen, gelegentlich werden auch nur drei bis vier Axone von einem Schwann'schen Fortsatz (Basalmembran andeutet) umhüllt. Von gleichstarken Fibroblastenfortsätzen unterscheiden sich die Axone durch völliges Fehlen von Ribosomen und größere Transparenz bei gleichmäßiger, feingranulärer Struktur. In größeren Axonquerschnitten werden zwei bis drei Mitochondrien getroffen. Intraepitheliale Nervenendungen können am 15. Gestationstag nicht eindeutig beobachtet werden.

Im Bereich der Wachstumsknospen sind die Zellen des Bindegewebsmantels lang und spindelartig geformt und ihre Fortsätze häufig dort dicht zusammengedrängt und dem Epithel dicht angelagert ($0,04 \mu$), wo dieses selbst vergleichsweise dicht erscheint. Das rauhe endoplasmatische Retikulum, dessen Schläuche zwischen 400 und $600 \text{ \AA}$ weit sind, ist in den Bindegewebszellen reich entwickelt und erstreckt sich bis weit in die Fortsätze hinein.

3.3 17. Gestationstag

Am 17. Gestationstag hat sich die Epithelanlage so weit verdichtet, daß die Parenchymanschnitte kaum mehr als ein bis zwei Kapillarbreiten von einander entfernt sind. Bei Übersichtsvergrößerung fallen helle und dunkle Zellen auf - eine Folge unterschiedlicher Polysomendichte. Im Zentrum der Epithelanschnitte sind nunmehr Lichtungen mit einem Durchmesser zwischen 2 und 6 μ entstanden, die von einem lückenhaften Mikrovillisaum (800 Å breit, 0,4 μ lang) begrenzt werden. Von der Basis her können Interzellularlücken bis zu zweidrittel Zelltiefe verfolgt werden, in die von den benachbarten Zellen bis 0,7 μ lange villöse Fortsätze hineinragen. Vom Bindegewebsraum sind sie lediglich durch die Basalmembran getrennt.

Die funktionelle Reifung der Drüse rückt am 17. Gestationstag in den Vordergrund. Die bisher schmalen Schläuche des rauhen endoplasmatischen Retikulums beginnen, sich bis auf 0,1 μ zu weiten. Außerdem sind 0,5 - 1,0 μ weite rundliche Hohlräume entstanden, die von einer ribosomenbesetzten Membran umgeben werden (der Ribosomenbesatz ist meist lückenhaft) und von einem gleichmäßig feingranulären Inhalt

erfüllt sind, der dem Inhalt des rauhen endoplasmatischen Retikulums gleicht. Daneben existieren gelappt begrenzte körnige Sekretmassen mit einem Durchmesser bis zu $2\text{ }\mu$, die von einer meist kontinuierlichen Membran umschlossen sind und in der Nähe der apikalen Zellmembran liegen. Teilweise werden sie nur noch durch die Zellmembran gegen die Lichtung abgegrenzt, teilweise ist auch diese durchbrochen. Im apikalen Zelldrittel werden meist mehrere benachbarte Golgiapparate angetroffen mit bis zu sechs Doppellamellen. In ihrer unmittelbaren Umgebung liegen gehäuft Mikrovesikel mit einem Durchmesser zwischen 400 und $600\text{ }\text{\AA}$. Diese Mikrovesikel finden sich auch dicht zusammengepackt und von einer Membran umhüllt als "Polyvesikel" von mittlerer Elektronendichte. Polyvesikel haben einen Durchmesser zwischen $0,15$ und $0,3\text{ }\mu$, je nach der Zahl der eingeschlossenen Mikrovesikel. Völlig elektronendichte scharf begrenzte Granula von etwa der gleichen Größenordnung wie die Polyvesikel - Übergangsformen zwischen beiden existieren - liegen im Bereich der grobkörnigen Sekretmassen sowie vereinzelt im apikalen Zytoplasma. Haben sie direkten Kontakt mit dem Sekret, so tragen sie einen unscharfen Saum; häufig finden sich auch Bruchstücke

dieser Granula an der Peripherie der Sekretmassen. In geringerer Dichte als im Epithel liegt grobkörniges Sekret in der Lichtung. Teilweise finden sich hier auch Strukturen, die membranbegrenzten Sekretgranula ähneln.

Den verbliebenen Bindegewebsraum durchziehen lange Fibroblastenfortsätze. Während die Epithelknospen am 15. Gestationstag noch von mehreren Zellschichten umschlossen wurden, winden sich nunmehr noch einzelne Bindegewebschlingen um das Drüsenparenchym. Reich verzweigtes rauhes endoplasmatisches Retikulum mit knospenartigen Endaufreibungen läßt auf umfangreiche Kollagenproduktion schließen. Die Gliederung der bis $3\text{ }\mu$ weiten Interzellularräume durch ungeordnete Filamentzüge und Filamentbündel sowie durch einzelne Fibrillen (kenntlich an ihrer Querstreifung) festigt diesen Eindruck.

Auffällig ist der Gefäßreichtum am 17. Gestationstag. Zwischen die Epithelknospen sind englumig dickwandige und weitleumig dünnwandige (venöse) Kapillarschenkel eingeschoben, die einen kontinuierlichen Wandaufbau zeigen. Auch in diesem Stadium sind alle Gefäßwände im Drüsenbereich noch einschichtig. Eine zarte kontinuierliche Basalmembran

liegt den Endothelien eng an. Wie in den früheren Stadien werden in den Gefäßwänden Mikrovesikel von 400 Å Durchmesser gefunden.

Das Wachstum der Nerven hat mit der Gefäßproliferation nicht Schritt gehalten, so daß nur im Verlauf einiger Gefäße Nerven beobachtet werden können. Ihre Ultrastruktur hat sich nicht auffällig geändert.

3.4 6 Stunden postpartum

Sechs Stunden nach der Geburt hat sich der Epithelanteil der Drüse auf Kosten des Bindegewebsraumes verdichtet. Erstmals erscheinen die Parenchymanschnitte in "Bindegewebsschlaufen" zu Gruppen zusammengefaßt, so daß der Eindruck einer Läppchengliederung entsteht. Außerdem lassen sich nunmehr Orte umfangreicher Sekretbildung - sternförmig um eine zentrale Lichtung geordnete Zellen - vom Rohrsystem der Ausführungsgänge abgrenzen.

Gegenüber dem 17. Gestationstag hat die Sekretbildung stark zugenommen. Sekretmassen füllen bis zu drei Viertel des Drüsenparenchyms aus. Der Zellkern wird dadurch zur Basis verdrängt und meist abgeplattet; Zellorganellen befinden sich nur in schmalen Randbezirken sowie in Parenchymbrücken und -inseln, die

zwischen den Sekretgranula stehengeblieben sind.

Auf Grund der unterschiedlichen Elektronendichte zweier Arten von Granula und verschiedenem Funktionszustand des rauhen endoplasmatischen Retikulums entsteht der Eindruck dunkler und heller Zellen.

Während in den hellen Zellen die Schläuche des rauhen endoplasmatischen Retikulums erweitert sind (bis zu 0,2 μ) und lichtet körniges Material enthalten, sind in den dunklen Zellen die Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums mit elektronendichtem Material gefüllt und schmal (bis 350 $\text{\AA}$), so daß ihr elektronendichter Ribosomenbesatz eng zusammengedrückt ist. Die dunklen Zellen sind charakterisiert durch dicht gepackte, gut gegeneinander abgrenzbare Sekretgranula mit vollständiger Membran und einem Inhalt mittlerer Elektronendichte, ähnlich der ihres rauhen endoplasmatischen Retikulums; der Granulumdurchmesser beträgt zwischen 700 $\text{\AA}$ und 1 μ (überwiegend um 0,5 μ). Einige Granula zeigen neben feingepunktetem Inhalt tubuläre Strukturen in netziger oder fingerabdruckähnlicher Anordnung. Gelegentlich kann eine offene Verbindung zwischen dem Schlauchsystem des rauhen endoplasmatischen Retikulums und einem mitteldichten Granulum beobachtet werden, außerdem die Verschmelzung kleinerer zu

größerer Granula. Die lichten Granula der hellen Zellen sollen ihrer optischen Leere wegen als Sekretvakuolen bezeichnet werden. Zum Teil ist ihr Inhalt jedoch auch grobkörnig strukturiert wie die Sekretmassen am 17. Gestationstag oder er zeigt feingranuläre Massen ähnlich denen im rauhen endoplasmatischen Retikulum. Die Entstehung der Sekretvakuolen läßt sich verfolgen von lichten $300 \text{ \AA}$ Mikrovesikeln bis zu "Sekretseen" von 7μ Durchmesser, wobei jeweils kleinere Vakuolen zu größeren verschmelzen. Die kleinsten Vesikel werden gehäuft in der Nähe von Golgilamellen angetroffen. Gelegentlich liegen völlig elektronendichte Granula - wie sie am 17. Gestationstag gefunden werden - im Cytoplasma. Jedoch haben sie höchstens einen Durchmesser von $0,3 \mu$. Seltener als am 17. Gestationstag liegen auch Bruchstücke dieser Granula innerhalb der Sekretvakuolen. In Zellkernnähe liegen Glykogeneinschlüsse (bis $1,5 \mu$ Durchmesser) aus kleineren $300 - 500 \text{ \AA}$ großen Granula zusammengesetzt.

Zwischen den Epithelzellen der sekretbildenden Endknospen öffnen sich - von der Basis bis zur halben Zelltiefe hineinreichend - weite Interzellularlücken (bis $0,5 \mu$), die von vielen $500 \text{ \AA}$ dicken, bis zu 1μ langen villösen Fortsätzen durchzogen werden.

Basal angelagerte Zellen werden vollständig von solchem Interzellularraum umgeben. Lumenwärts gehen die Interzellularlücken in schmale gestreckte Spalte über (etwa 100 Å) und werden gegen das Lumen durch Schlußleisten verschlossen.

Relativ elektronendurchlässige organellenarme Zellen werden gelegentlich an der Peripherie der Endknospen angetroffen; sie werden zusammen mit dem nachfolgenden Entwicklungsstadium näher beschrieben.

Der Bindegewebsraum wird 6 Stunden post partum von Fortsätzen durchzogen, die von parenchymarmen Zell=leibern mit plumpen Kernen ausgehen. In den weiten Interzellularlücken liegt vermehrt Interzellulärsub=stanz. Bündel von Kollagenfibrillen liegen ober=flächenparallel sowie ungeordnet zwischen den Zellen. Das rauhe endoplasmatische Retikulum der Bindegewebs=zellen zeigt keine Erweiterung wie am 17. Gestations=tag und ist auch nicht ganz so reich entwickelt.

Das Ausführungsgangsystem, das sich 6 Stunden post partum erstmals deutlich von den sekretproduzierenden Endknospen abgrenzen läßt, beginnt im Anschluß an diese mit einem kurzen Gangabschnitt von etwa 3 µ Lumendurchmesser und kubischen Wandzellen. Die läng=lichen Kerne liegen mittelständig und lumenparallel.

Zwei dieser Gänge vereinigen sich zu einem etwa 6 μ weiten Gangabschnitt mit ebenfalls kubischen Wandzellen und runden sowie länglichen Kernen. Die Begrenzung zum Lumen ist sehr unregelmäßig, wie ausgefranst. Diese beiden Gangabschnitte werden - von ungerichtetem Bindegewebe umgeben - innerhalb der sich herausbildenden Drüsenläppchen gefunden, während die proximal anschließenden zweischichtigen Sekretrohre von einem eigenen, aus zwei bis drei Zelllagen bestehenden Bindegewebsmantel konzentrisch umhüllt werden und somit extralobulär liegen. Die zweischichtigen Sekretrohre haben ein wenig weiteres Lumen von 7 bis 8 μ Durchmesser (zweischichtige Gangabschnitte mit nur 4 μ weitem Lumen finden sich auch intralobulär).

Alle drei genannten Ausführungsgangabschnitte zeigen dieselbe Ultrastruktur; sie enthalten einige Mitochondrien, sind reich an Polysomen, zeigen jedoch kaum rauhes endoplasmatisches Retikulum. Benachbarte Zellen sind an ihrer Basis meist mehrfach durch 0,04 μ dicke und bis 1 μ lange Cytoplasmablätter fingerförmig ineinander verzahnt, während sich lumenwärts ein mäßig gewundener Interzellularspalt verfolgen läßt, über den hinweg die Zellen mit

Desmosomen verknüpft sind.

Der mundhöhlennächste Ausführungsgangabschnitt, der dem Hauptausführungsgang entspricht, hat ein Lumen zwischen 6 und 8 μ und eine Wandstärke von etwa 13 μ . Die Epithelwand ist aus hochprismatischen hellen (da ribosomenarmen) Zellen aufgebaut, die ins Lumen vorbuckeln und an der Basis stark ineinander verzahnt sind, wodurch in diesem Bereich eine Streifung entsteht. Nahezu runde helle Zellkerne (3,5 - 4,5 μ Durchmesser) mit gut abgrenzbaren Nukleolen erfüllen die apikale Zellhälfte. Bis zu 5 μ lange Mitochondrien liegen reichlich im Cytoplasma; rauhes endoplasmatisches Retikulum ist kaum entwickelt. Basal sind in die Reihe der hochprismatischen hellen Zellen dunkle Zellen mit elektronendichtem Cytoplasma in wechselndem Abstand eingeschoben; sie reichen teilweise über die halbe Wandtiefe hinaus lumenwärts und haben dunkle längliche Kerne mit grobkörniger Chromatinstruktur.

In Lumennähe finden sich in allen beschriebenen Gangabschnitten Ansammlungen von Mikrovesikeln (etwa 0,1 μ); vereinzelt treten sie auch auf an der Zellbasis und in Nachbarschaft der Interzellularräume. Der mundhöhlennahe Ausführungsgangabschnitt wird von einem etwa fünf Zellagen umfassenden Bindege-

websmantel umgeben, dessen Interzellularraum sehr reich an Kollagenfibrillenbündeln ist, die bald längs bald quer getroffen werden, also ein dichtes Netz um den Gang bilden.

Die Gefäße zeigen 6 Stunden post partum auffällige Veränderungen. Während bis zum 17. Gestationstag einschließlich nur einfache Endothelien die Gefäßwände innerhalb der Glandula submandibularis aufbauen, besitzen 6 Stunden post partum die arteriellen Gefäßschenkel im Bereich der proximalen Aufgangabschnitte eine vollständige zweite Wandschicht, die ihrerseits von einem äußeren und inneren Basalmembran-Blatt umgeben ist, so daß zwischen dem Endothel und der aufgelagerten Schicht eine Basalmembran-Doppellamelle sichtbar ist. An weiter distalen Gefäßabschnitten sowie den größeren venösen Schenkeln umschließen die aufgelagerten Zellen das Endothel nur lückenhaft, während die Gefäßanschnitte im sekretproduzierenden Endknospenbereich weiterhin einschichtig sind und einen kontinuierlichen Wandaufbau zeigen. In den Endothelien werden wie in den früheren Stadien reichlich Mikrovesikel angetroffen. Mindestens ein Nerv wird in diesem Stadium im Verlauf eines Gefäßes angetroffen. Alle Nerven sind markarm.

Im Bereich der Endknospen lassen sich selten Nervenfasern in Epithelnähe, jedoch nicht intraepithelial verfolgen.

3.5. 5 Tage post partum

Fünf Tage nach der Geburt hat der epitheliale Anteil des Drüsengewebes gegenüber dem Bindegewebsanteil weiter deutlich zugenommen. Die sekretbildenden Endknospen, unter denen die hellen Zellen gegenüber den dunklen stark überwiegen, sind auf schmale Zwischenräume aneinandergerückt. Das Drüsenprodukt erfüllt im Medianschnitt durch die Endknospe fast die gesamte Zelle; nur im Tangentialschnitt wird in Kernnähe dicht in Reihen geordnetes rauhes endoplasmatisches Retikulum getroffen, dessen Anordnung gelegentlich an einen Fingerabdruck erinnert. In den Zellen mit den dunklen Granula ist zentral meist ein großer heller Sekretsee entstanden (bis 5 μ Durchmesser).

Wie bereits 6 Stunden post partum beobachtet, liegen an die sezernierenden Endknospen peripher angelagert, jedoch innerhalb der Basalmembran relativ elektronendurchlässige organellenarme Zellen. Ihr Kern liegt gelegentlich in eine Epithelnische eingebettet, während ihre schlanken Ausläufer um das Epithel herumgreifen und durch tight junctions und Desmosomen mit ihm in Verbindung stehen, solange sie nicht durch einen etwa 0,25 μ breiten Interzellularraum getrennt werden. Diesen überbrückt das Epithel mit einzelnen villösen Fortsätzen von 350 Å Dicke.

Im Bereich des Ausführungsgangsystem lassen sich zwischen

Schaltstücken und Hauptausführungsgang sowie hauptausführungsgangähnlichen interlobulären gestreiften Gangabschnitten außer Rohren mit zweischichtiger Wand nun auch einschichtige Rohrabschnitte mit gestreifter Basis erkennen. Einerseits sind Tubuli entstanden mit kubischem bis prismatischem Epithel und nahezu runden mittelständigen Kernen. Ihre Streifung wird dadurch hervorgerufen, daß 500 Å dicke blattartige Cytoplasmafortsätze benachbarter Zellen im gemeinsamen Interzellularraum in radiärer Ausrichtung fingerförmig in einander verzahnt sind. Hinzu kommen Anschnitte radiärgestellter Mitochondrien, die vor allem am basalen Zellpol getroffen werden. Andererseits sind Gänge mit hochprismatischem Epithel entstanden, deren Kerne oval und mittelständig sind. Ihre Streifung wird weniger durch die Struktur der Interzellularlücken hervorgerufen, als vielmehr durch Faltungen der basalen Zellmembran zwischen wesentlich dichter gepackten radiär ausgerichteten Mitochondrien.

Gestalt und Lagerung der Bindegewebszellen hat sich seit dem vorhergehenden Stadium nicht auffällig geändert. Die Zahl der Gefäße pro Epithelquerschnitt hat ein wenig abgenommen, entsprechend auch die Zahl der begleitenden Nerven.

Venöse Kapillarschenkel im Bereich der Endknospen zeigen eine geringe Fensterung.

4. Diskussion

Wie aus den einleitend dargestellten Arbeiten hervorgeht, ist die spezifische Strukturentwicklung der Speicheldrüsen an ein geregeltes Wechselspiel zwischen Epithel und Bindegewebe gebunden. In diesen Arbeiten zeichnen sich zwei Richtungen ab. Einerseits wird die Spezifität des Bindegewebes untersucht, andererseits wird nach den formgebenden Einflüssen des Bindegewebes während der Entwicklung gefragt.

Zur ersten Gruppe zählen die Untersuchungen von BORGHESE (1950), sowie LAWSON (1972), in denen nachgewiesen wird, daß vom Bindegewebe, das die Drüse direkt umgibt, ein Wachstumsstimulus ausgeht, der der Zellmasse direkt proportional ist.

Wie schon frühere lichtmikroskopische Arbeiten gezeigt haben und wie die eigenen elektronenmikroskopischen Befunde eindrucksvoll bestätigen, wird die Epithelknospe in einem frühen Entwicklungsstadium schon von einer besonders dichten Binde-

gewebshülle umgeben, die sich deutlich gegen das umgebende Mesenchym abgrenzen läßt und dadurch wie eine Kapsel imponiert. Diese Kapsel wächst zunächst sehr viel schneller, als das Drüsenepithel und wird erst gegen Ende der Embryonalzeit vollständig vom verzweigten Gangsystem der Drüse ausgefüllt. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß in Abhängigkeit vom Kapselbindegewebe - Epithel - Quotienten, der mit zunehmendem Alter der Drüsenanlage abnimmt, der Wachstumsreiz nachläßt. Der Nachweis hierfür ließe sich möglicherweise planimetrisch erbringen.

Einen weiteren Hinweis auf den Stimulationseffekt des Bindegewebes gibt der schon am 13. Gestationstag in den Kapselbindegewebszellen stark entwickelte Golgiapparat, da er als Syntheseort der Mukopolysaccharide gilt (NEUTRA und LEBLOND 1966) und diese einen proliferativen Effekt auf Epithelien besitzen. Ein Golgiapparat mit drei bis vier Doppellamellen wird meist in Kernnähe angetroffen. In seiner Umgebung befinden sich kleine elektronendichte Granula von 250 - 350 Å Durchmesser und Vesikel mit einem Durchmesser von 470 - 950 Å. Letzte zeichnen sich

aus durch ein lichtiges Zentrum mit schmalelem elektronen=dichteren Saum, der der Vesikelmembran anliegt.

Während die dichten Granula - möglicherweise handelt es sich um Lysosomen - vorwiegend in Nachbarschaft der Golgilamellen zu finden sind, werden die Vesikel auch in den Zellfortsätzen getroffen; gelegentlich sind sie dicht an die Zellmembran angelagert oder in diese eingebaut und zum Interzellularraum geöffnet. Mit diesen Vesikeln werden offensichtlich die Mukopolysaccharide ausgeschleust (vergleiche MERKER und STRUWE 1970).

Die von LAWSON beschriebene Kapselzellspezifität steht im Einklang mit der Klontheorie (NESBITT und GARTLER 1971), die die Zellpopulationen aller Organe auf jeweils einige wenige Stammzellen zurück=führt. In den Stammzellen ist der "Organbauplan" festgelegt und wird dem aus ihnen hervorgehenden Zellklon einheitlich mitgegeben. Die beobachtete vorausseilende Entwicklung des Drüsenbindegewebes schafft somit ein Reservemesenchym von struktur=prägenden Zellen. Dieses wird im Laufe der Entwicklung

vom hineinwachsenden Drüsenparenchym so weitgehend ausgefüllt, daß nur noch schmale Septen stehen bleiben.

Zur Frage der strukturprägenden Funktion des Bindegewebes sollen die eigenen Befunde mit den Arbeiten von GROBSTEIN (1953) und GROBSTEIN, COHEN (1965) sowie Ergebnissen von SPOONER, WESSELLS et al. (1970/71/72) verglichen werden.

Eine Möglichkeit, auf das Epithel formgebend einzuwirken - entsprechend der von GROBSTEIN und COHEN entwickelten Vorstellung einer "Kollagenzwangsjacke" - besteht darin, daß das Bindegewebe an einigen Stellen das Vorwachsen der Drüsenanlage behindert, dazwischen jedoch den Weg freigibt. Auf diese Weise würde am Ort des Wachstumshindernisses eine Verzweigung des Drüsenepithels entstehen. Ein Wachstumshindernis kann durch vermehrte Kollagenablagerung an umschriebenen Bezirken der Epithelknospe aufgebaut werden. Wie die vorliegenden Befunde zeigen ist das rauhe endoplasmatische Retikulum, der Syntheseort des Kollagens, (MERKER 1961, PORTER 1964, ROHR 1965, ROSS 1967) am 13. Gestationstag in den Bindegewebszellen des inneren Kapselbezirks spärlich entwickelt. Vereinzelt 0,5, jedoch bis 2 μ lange Anschnitte werden in einem

Zellquerschnitt getroffen. Nur einige Zellen in direkter Nachbarschaft zum Epithel zeigen schon ein mehrfach verzweigtes Schlauchsystem. Ribosomen= besetzte Vesikel von $0,2 - 0,3 \mu$ Durchmesser werden gelegentlich getroffen. Möglicherweise handelt es sich hierbei um Endauftreibungen des rauen endo= plasmatischen Retikulums kurz vor der Entleerung in den interstitiellen Raum (vergl. ROHR 1965, ROSS 1965, MERKER und STRUWE 1970).

Vermehrte Einlagerung von Kollagenfilamentbündeln in Nischen und Buchten der Epithelanlage weist einerseits daraufhin, daß die umgebenden Bindege= webszellen bereits Kollagen sezernieren, ist aber vor allem deutlicher Ausdruck eines Wachstums= hindernisses. Die Nischen entstehen dadurch, daß eine Epithelzelle um vorgelagerte Kollagenbündel seitlich herumwächst. Besonders deutlich wird dieser Vorgang dort, wo Filamentbündel im Schnitt querge= troffen werden und die Epitheloberfläche einen Bogen um das Hindernis beschreibt. Besteht das Hindernis länger, so entstehen Buchten, die von mehreren Zellen begrenzt werden. Sie sind häufig langgestreckt und schmal und werden gelegentlich von einem Fibroblastenfortsatz durchzogen.

Zwischen den Bindegewebszellen finden sich demgegenüber nur selten filamentäre Strukturen, so daß die Zellen, obwohl dicht gelagert, leicht gegeneinander verschieblich sind und dem vorwachsenden Epithel ausweichen können. Möglicherweise ist für die geringe zwischenzellige Kollagenablagerung ein von den Bindegewebszellen abgegebenes lytisches Enzym verantwortlich.

Eine Möglichkeit der Drüsenformung, bei der das Epithel aktiv beteiligt ist, wird von SPOONER, WESSELLS (1970/72, 1971) et al. diskutiert. Angeregt durch eine vom Bindegewebe abgegebene Induktorsubstanz sollen kontraktile Strukturen (50 Å Mikrofilamente) in den Epithelzellen angeregt werden und mehrere Zellen durch basale Zellwandverkürzung Einziehungen an den Epithelzellen hervorrufen. Die vorliegenden elektronenmikroskopischen Befunde lassen eine Deutung in diesem Sinne nicht zu, da in keinem Stadium der Furchenbildung Mikrofilamentanordnungen in den beteiligten Zellen gefunden werden können, weder an der Zellbasis noch am Zellapex. Kontraktionsprozesse an Zytokinesestadien - "kontraktiler Ring" von SCHROEDER - lassen sich bestätigen. Da diese Vorgänge jedoch Erscheinungen allgemeingültiger Zellteilungsprozesse sind, er=

lauben sie keine Rückschlüsse auf morphogenetische Prozesse im Sinne von SPOONER, WESSELLS et al.

Die Befunde vom 15. Gestationstag und spätere Stadien lassen auch eine entscheidende Rolle der Gefäße als Wachstumshindernis erkennen. Sehr häufig werden Kapillaren in oder direkt in der Nähe von Epithelfurchen und -einsenkungen gefunden. Im ersten Fall verschmelzen die einander benachbarten Basalmembranen miteinander. Die Basis der anliegenden Epithelzellen ist oft stark gefaltet und die Basalmembran darüber aufgeworfen. Letztgenanntes spricht wieder für einen Kontraktionsprozeß; er kann jedoch morphologisch nicht belegt werden.

Nerven mit maximal dreißig Axonen werden schon am 13. Tag im Verlauf der Kapillaren getroffen. Eine Schwann'sche Einscheidung läßt sich in diesem Stadium noch nicht nachweisen, da an den umhüllenden Zellen keine Basalmembran existiert; sie ist erst in den nachgeburtlichen Stadien deutlich ausgebildet.

Über die Funktion der Nervenzellen im Dienste der Speicheldrüsenmorphogenese lassen sich nur Vermutungen äußern. Einerseits könnten sie über einen Anreiz der Mukopolysaccharidsynthese und -ausschleusung

die Proliferation des Epithels beschleunigen, andererseits durch Abgabe diffusibler Transmitter über eine Enzyminduktion im Epithel zur Differenzierung beitragen.

Im untersuchten Entwicklungszeitraum können keine intraepithelialen Nervenendungen nachgewiesen werden, nur gelegentlich Anschnitte von Axonen in Epithelnähe. YOHRO (1971) kommt bei seinen Untersuchungen der Innervation der Glandula submandibularis der erwachsenen Maus zu dem selben Ergebnis. Die nervale Sekretstimulation erfolgt demnach wohl auf dem Wege der Diffusion einer Transmittersubstanz vom freien Nervenende zum Drüsenepithel.

Ihre funktionelle Reife erlangt die Glandula submandibularis erst nach der Geburt mit der Ausbildung funktionstüchtiger sekretbildender Endknospen. Noch am 17. Gestationstag enden die Parenchymäste der Drüse in Tubuli mit ersten geringen Anzeichen einer Sekretion, den "terminal tubuli", wie sie seit den Arbeiten von JAKOBY und LEESON (1959 a und b) bezeichnet werden. Die von ihnen beschriebenen "distinct secretion granules" in den terminal tubuli bei neugeborenen Ratten können bei der Maus schon am 17. Gestationstag beobachtet werden. Sie entsprechen

den beschriebenen dichten Granula, deren Entstehung aus Golgivesikeln über Polyvesikel ("condensing vakuoles" SCOTT und PEASE 1959, sowie YOHRO 1970; "multivesicular bodies" COWLEY und SHAKLEFORD 1970) an Hand kontinuierlicher Zwischenstufen verfolgt werden kann. Ähnliche Zwischenformen finden sich bei der Bildung von Zymogengranula im Pankreas ("Intermediärkörper" HIRSCH 1960, "condensing vacuoles" JAMIESON und PALADE 1967).

Die dichten Granula werden am 17. Gestationstag jedoch nicht nur allein im Cytoplasma getroffen, sondern auch am Rande von hellen Sekretvakuolen, die ihrerseits häufig zu gelappten Formationen zusammengefließen sind. In diesen Sekretvakuolen zeigen die dichten Granula zum Teil einen unscharfen Rand; außerdem kommen auch Bruchstücke vor. Hier handelt es sich wahrscheinlich um Auflösungsvorgänge, bei denen der Inhalt der dichten Granula sich gleichmäßig in den hellen Vakuolen verteilt. Bei Schleimdrüsen der menschlichen Nasenhöhle beschreibt MERKER (1967) einen vergleichbaren Auflösungsprozeß und dessen Beschleunigung durch das Sekretolytikum Bisolvon.

Sechs Stunden nach der Geburt werden innerhalb der stark vermehrten, kernverdrängenden hellen Sekretmassen nur noch Bruchstücke dichter Granula gefunden; fünf Tage post partum können sie nicht mehr beobachtet werden. Die dichten Granula werden also physiologischerweise nur perinatal gebildet, während nach der Geburt das Sekret in großen Golgivesikeln gespeichert wird, die, ohne vorübergehend kondensiert zu werden, direkt zu Sekretvakuolen verschmelzen. Da nach Ligatur des Hauptausführungsganges (TAMARIN 1967) die gebildeten dichten Granula denen der terminal tubuli gleichen, läßt sich vermuten, daß sie eine Speicherform darstellen, die gebildet wird, bevor die Ausführungsgänge der Drüse vollständig eröffnet sind.

Neben den dichten Granula und Vakuolen findet sich vom ersten Lebenstag an eine weitere Granulaform mittlerer Elektronendichte. Sie wird möglicherweise nicht nur über Golgivesikel, sondern auch im rauen endoplasmatischen Retikulum direkt gebildet, da Verbindungen zwischen Granuluminhalt und rauhen endoplasmatischen Retikulum beobachtet werden können. Gelegentlich zeigen diese Granula Innenstrukturen, die an "beta granules" (KUMAGEWA et al. 1967) oder "granules of duct type cells" (KIM et al. 1970) erinnern. Die Zellen, in denen sie gefunden werden, entsprechen den von YAMASHINA und BARKA (1972)

sowie von BRESSLER (1973) beschriebenen "proacinar cells", die - wie der Name sagt - als Vorstufe der Acinuszellen gefunden werden und sich diesen gegenüber durch wohlabgrenzbare, elektronendichtere Granula auszeichnen.

Fünf Tage nach der Geburt überwiegen in den Endknospen die konfluierenden lichten Sekretmassen. Über ihre chemische Natur bei verschiedenen Spezies gehen die Ansichten in der Literatur weit auseinander; sie reichen von "atypisch mukös" (GRAD und LEBLOND 1949, LEBLOND 1950); "sero-mukös" (SCHAFFER 1908); "mehr mukös, als serös" (BOERNER und PATZELT 1955/56); "special serous" (STORMANT 1932) bis "serös" (PEASE 1956); HILLARP (1949), sowie JAKOBY und LEASON (1959) vermeiden eine Entscheidung. SHACKLEFORD und KLAPPER (1962) unternehmen eine Vereinheitlichung der histochemischen Klassifizierung in "serös", "mukös" und "seromukös" auf Grund von Färbungen mit Alcian Blau und kolloidalem Eisen (saure Kohlehydrate) sowie PAS-Reaktion (neutrale Kohlehydrate). Dieser Einteilung entsprechend ist das Sekret der Glandula submandibularis bei der Maus seromukös. Das elektronenmikroskopische Bild des konfluierenden lichten Sekrets fünf Stunden post partum ist eher vergleichbar mit

dem Bild des mukösen Sekrets in der Glandula sublingualis als mit den serösen Zymogengranula der Parotis. Einerseits ist beiden Drüsen die geringe Elektronendichte des Sekrets gemeinsam und seine unvollständige Membranbegrenzung, andererseits ein stark erweiterter, deutlicher Golgiapparat, so daß man aus dieser Sicht die Glandula submandibularis der Maus als mukös bezeichnen muß.

Auch die Differenzierung des Ausführungsgangsystems setzt gleich nach der Geburt ein. Mit dem Ausknospen der Acini lassen sich nunmehr Sekretbildungszentren und Ausführungsgangsystem gegeneinander abgrenzen. Während YOHRO (1970) die Entstehung der Ganglumina erst kurz nach der Geburt beobachtet, zeigen die eigenen Befunde, daß die terminal tubuli schon am 17. Gestationstag auf $3 - 4 \mu$, teilweise bis auf 7μ eröffnet sind. Doch scheint sich die Lumenerweiterung in der von YOHRO geschilderten Weise zu vollziehen; mit den Granula der terminal tubuli wird zugleich apikales Cytoplasma abgestoßen, so daß die Lumina unregelmäßig begrenzt, die Zellen apikal wie "ausgefranst" erscheinen. Die Granula der terminal tubuli enthalten möglicherweise vorwiegend lytische Enzyme, denen bei der Abstoßung des apikalen Zellanteiles

entscheidende Bedeutung zukommt.

Am Übergang von den Acinusknospen zum Ausführungssystem entstehen Schaltstücke mit lumenparalleler Kernanordnung und niedrigem Epithel (2,5 - 3 μ). Zwei dieser Gänge vereinigen sich zu einem mit größerem Lumendurchmesser (etwa 6 μ). Hinsichtlich dieses intralobulären Gangabschnittes stimmen die vorliegenden Ergebnisse nur zum Teil mit denen von JAKOBY und LEESON (1959) bei der Ratte überein. Die Gänge zeigen zwar meist ein niedriges kubisches oder prismatisches Epithel und ihre Kerne sind dicht zusammengedrängt, doch sind die Wandabschnitte nicht überall einschichtig, bisweilen sogar vollständig zweischichtig. Auch interlobulär finden sich sechs Stunden nach der Geburt unvollständig zweischichtige Gangabschnitte. Sie entsprechen den am fünften postpartalen Tag gefundenen gestreiften interlobulären Ausführungsgängen mit basalen dunklen Zellen, die sich zum Hauptausführungsgang vereinen. Der Hauptausführungsgang zeigt bereits am 15. Gestationstag einen zentralen Stichkanal und einen etwa zweischichtigen Wandaufbau, der bis zum 5. postpartalen Tag in einen einschichtigen umgebaut wird mit dunklen basalen Zellen (SHACKLEFORD und SCHEYER 1971) und basaler Streifung.

Am 5. Tag nach der Geburt haben sich auch an den intralobulären Gangabschnitten Streifungen herausgebildet. Die beschriebenen Tubuli mit kubischem bis prismatischem Epithel differenzieren sich bis zum Erlangen der Geschlechtsreife zu "striated secretory tubules" oder "granular secretory tubules" (CARAMIA 1966); von JAKOBY und LEESON werden sie infolge ihres gekrümmten Verlaufes als "convoluted granular tubules" bezeichnet. Die gestreiften intralobulären Gänge mit hochprismatischem Epithel entsprechen den "intralobular striated ducts" (JAKOBY, LEESON 1959 a und b, CARAMIA 1966).

Von den intralobulären Ausführungsgängen bis zum Hauptausführungsgang finden sich vor allem im apikalen Zellbereich Ansammlungen von optisch leeren Mikrovesikeln (etwa $1300 \text{ \AA}$), in den Streifenstücken überwiegend größere Vesikel ($3000 \text{ \AA}$). Da Mikrovesikel derselben Größenordnung in den Endothelien der benachbarten Gefäße beobachtet werden können, sowie häufig an den stark oberflächenvergrößernden basalen Membranfaltungen des Hauptausführungsganges und der Streifenstücke (TANDLER 1963) und in unmittelbarer Beziehung zu den Interzellularlücken der intralobulären Gänge gefunden werden, muß an aktive Transportprozesse

im Ausführungsgangsystem gedacht werden. Untersuchungen über die Physiologie des Hauptausführungsganges (YOUNG et al. 1967, SCHEYER 1968) haben ergeben, daß der in die Mundhöhle sezernierte Sekundärspeichel dem Serum und Acinussekret gegenüber hypoton ist, bedingt durch aktive Na-Rückresorption bei geringerer aktiver K-Sekretion und nur mäßigem Wasserabstrom aus dem Lumen des Hauptausführungsganges. In wie weit die Streifenstücke durch Wassertransport (PEASE 1956, DAIMOND 1964, DAIMOND und TORMEY 1966) für die Konsistenz des Sekundärspeichels mitverantwortlich sind, ist bislang ungeklärt.

Im Dienst der Drüsenfunktion sind die Gefäße als Zulieferer der Sekretbestandteile von entscheidender Bedeutung. Nur ein ausreichendes Kapillarnetz um die Drüsenacini und ein dem umfangreichen Stofftransport angepaßter Wandaufbau ermöglichen die volle Funktionstüchtigkeit der Drüse.

Am 13. Entwicklungstag werden die ersten Kapillarschnitte in der äußeren Bindegewebskapsel gefunden, jedoch noch nicht in direkter Nähe der Epithelknospe. In das Lumen der Gefäße ragen vielgestaltige Endothelprotuberanzen. Die am 13. Tag noch recht zart ausgebildete Basalmembran (vergleiche BÄR 1971) ver-

ichtet sich bis zum 15. Tag zusehends durch Ausschleusung von Basalmembran-Material. In diesem Stadium werden die ersten Gefäßanschnitte in unmittelbarer Epithelnähe getroffen und am 17. Gestationstag verschmelzen häufig durch die enge Nachbarschaft von Epithel und Gefäß ihre Basalmembranen. Die zunehmende Zahl optisch leerer Mikrovesikel deutet auf zunehmende Cytopempsis im Endothel. In den terminal tubuli werden in diesem Stadium die ersten Sekretgranula gebildet. Wenige Stunden nach der Geburt hat die Zahl der Mikrovesikel parallel mit der ersten Sekretausschleusung weiter stark zugenommen. In diesem Stadium sind vor allem im Bereich der arteriellen Schenkel die Gefäßwände nicht mehr einschichtig, sondern lückenhaft von einer zweiten Zellschicht umgeben, im Bereich des Hauptausführungsganges sogar vollkommen zweischichtig. Die aufgelagerten Zellen - es handelt sich um Myoblasten - sind allseitig von einer eigenen Basalmembran umgeben. So finden sich im Bereich der Glandula submandibularis nach der Geburt außer den Kapillaren auch Endarteriolen und Arteriolen (Systematik nach MAJNO 1965). Die Kapillaren gehören ausschließlich zum kontinuierlichen Typ, haben also sowohl ein ununterbrochenes Endothel als auch eine

kontinuierliche Basalmembran. HAMMERSEN (1966 b) postuliert, daß alle stark sezernierenden Epithelien von fenestrierten Kapillaren versorgt werden. Nach eigenen Beobachtungen lassen sich an den Gefäßen der Glandula submandibularis erst am 5. Tag post partum gelegentlich Endothelfenster im venösen Kapillarschenkel nachweisen, so daß eine umfangreiche Fensterung wohl erst im Verlauf der weiteren postnatalen Entwicklung entsteht.

Eine graphische Darstellung des prozentualen Anteils von Epithel, Interstitium sowie Gefäßen am gesamten Gewebsvolumen im Verlauf der pränatalen und frühen postnatalen Entwicklung zeigt eindeutig die Zunahme des Gefäßanteils bis zum Beginn der Sekretbildung (Abb 12). Perinatal nimmt der Epithelanteil auf Kosten des Gefäßanteiles zu (Aussprossung der Acini); postnatal wächst der Epithelanteil weiter auf Kosten des Bindegewebsraumes. Aus der Abnahme des Gefäßanteiles etwa vom 17. Embryonaltag an, läßt sich schließen, daß bis zu diesem Zeitpunkt die Gefäßproliferation weitgehend abgeschlossen ist. Ihr folgt eine Differenzierungsperiode (Bildung von Endarteriolen und Arteriolen).

Myoepithelzellen können in den vorliegenden Befunden

nicht eindeutig nachgewiesen werden. Jedoch lassen sich 6 Stunden und besonders 5 Tage nach der Geburt helle organellenarme Zellen finden, die an der Peripherie der Acini gelegen sind. 5 Tage nach der Geburt zeigen sich im epithelzugewandten Cytoplasma gelegentlich kleine Bündel von Mikrofibrillen als Vorboten kontraktiler Strukturen. Diese Beobachtungen decken sich mit denen von TANDLER (1965); er äußert die Vermutung, daß die Myoepithelzellen von Schaltstücken "geliefert" werden und sich als zunächst sehr transparente Zellen (clear cells) an der Peripherie der Acini anordnen.

5. Zusammenfassung

Die vorliegenden Untersuchungen haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. Bei der Morphogenese spielt das Bindegewebe eine doppelte Rolle. Es regt einerseits die Proliferation des Epithels an, wirkt andererseits durch den Aufbau einer "Kollagenzwangsjacke" formgebend. Ebenfalls formgebend wirken die Gefäße. Aktive Beteiligung des Epithels an der Strukturentwicklung durch Kontraktionsprozesse konnten nicht beobachtet werden.
2. Nerven werden schon am 13. Gestationstag in der Nähe der Drüsenknospe gefunden. Sie haben in dieser Phase möglicherweise wachstumsstimulierenden oder (und) differenzierenden Einfluß auf das Epithel. Intraepitheliale Nervenendungen können an keinem der untersuchten Stadien beobachtet werden.
3. Erste Sekretbildung wird bereits am 17. Gestationstag beobachtet; die volle Funktionsfähigkeit entwickelt sich erst nach der Geburt mit der Entstehung der Acini, die muköses Sekret sezernieren.

4. Die Differenzierung des Ausführungsgangsystems in Schaltstücke und Streifenstücke erfolgt erst nach der Geburt und ist 5 Tage post partum noch nicht abgeschlossen.
5. Bis zur Geburt verdichtet sich das Gefäßnetz der Drüse; anschließend folgt eine Differenzierungsperiode.
6. Transparente, zellorganellenarme Zellen an der Peripherie der Acini in den nachgeburtlichen Stadien sind möglicherweise junge Myoepithelzellen.

6. Literaturverzeichnis

BÄR, T.:

Über die Morphogenese der kapillären Basalmembran während der Gefäßentwicklung im Cerebralcortex der Ratte.

Inauguraldissertation Berlin (1971)

BLUEMINK, I.G.:

Effects of cytochalasin B on surface contractility and cell junction formation during egg cleavage *xenopus laevis*.

Cytobiologie 3, 176 - 187 (1971)

BOERNER-PATZELT, D.:

Die Mundspeicheldrüsen des Goldhamsters.

Anat.Anz. 102, 317 - 332 (1955-56)

BORGHESE, E.:

The development in vitro of the submandibular and sublingual glands of *mus musculus*.

J. Anat. 84, 287 - 302 (1950 a)

Explantation experiments on the influence of the connective tissue capsule on the development of the epithelial part of the submandibular gland of *mus musculus*.

J. Anat. 84, 303 - 318 (1950 b)

BRESSLER, R.S.:

Fine structure of differentiating acini
in submandibular glands of isoproterenol=
treated rats.

Am.J.Anat. 138, 431 - 448 (1973)

BYERS, B., PORTER, K.R.:

Orientated microtubules in the elongating
cells of the developing lens rudiment
after induction.

Proc.Nat.Acad.Sci. 52, 1091 - 1099 (1964)

CARAMIA, F.:

Ultrastructure of mouse submaxillary
gland.

I. Sexual differences.

J. Ultrastruct. Res. 16, 505 - 523 (1966)

CARTER, S.B.:

Die Cytochalasine als Hilfsmittel bei
cytologischen Untersuchungen.

Endeavour Bd. XXXI Nr. 113, 77 - 82 (1972)

CHIEVITZ, J.H.:

Beiträge zur Entwicklungsgeschichte
der Speicheldrüsen.

Arch. f. Anat. 24, 401 - 436 (1885)

COWLEY, L.H., SHACKLEFORD, J.M.:

An ultrastructural study of the submandibular glands of the squirrel monkey, *saimiri sciureus*.

J. Morph. 132, 117 - 136 (1970)

DAIMOND, J.M.:

The mechanism of isotonic water transport.

J. gen. Physiol. 48, 15 - 42 (1964)

DAIMOND, J.M., TORMEY, J.:

Role of long extracellular channels in fluid transport across epithelia.

Nature 210, 817 - 820 (1966)

ESTENSEN, R.D., ROSENBERG, M., SHERIDAN, J.D.:

Microfilaments and "Contractile" process.

Science 173, 356 - 357 (1971)

FLINT, J.M.:

Das Bindegewebe der Speicheldrüsen und des Pankreas und seine Entwicklung in der Glandula submaxillaris. (1903)

Arch. f. Anat. u. Physiol. (Zitiert nach MORAL, 1913)

GRAD, B., LEBLOND, C.P.:

The necessity of testis and thyroid hormones for the maintenance of the serous tubules of the submaxillary gland in the male rat.

Endocrinology 45, 250 - 266 (1949)

GROBSTEIN, C.:

Epithelio-mesenchymal specificity in the
morphogenesis of mouse submandibular
rudiments in vitro.

J. exp. zool. 124, 383 - 413 (1953)

GROBSTEIN, C., COHEN, J.:

Collagenase: Effect on the morphogenesis
of embryonic salivary epithelium in vitro.

Science 150, 626 - 628 (1965)

HAMMERSEN, F.:

Poren- und Fenster-Endothelien der Kapillaren
in der Skelettmuskulatur der Ratte.

Z. Zellforsch. 69, 296 - 310 (1966 b)

HILLARP, N.:

Some critical remarks on the problem of the
double innervation of salivary gland cells.

Acta Anat. 8, 190 - 200 (1949)

HIRSCH, G.C.:

Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreas=
zelle bei der Produktion von Enzymen. Mit
einem Exkurs über Ergastoplasma und
Golgi-Körper.

Naturwissenschaften Jahrg. 47, Hft. 2,
25 - 35 (1960)

JACOBY, F., LEESON, C.R.:

The postnatal development of the rat
submaxillary gland.

J. Anat. 93, 201 - 216 (1959 a)

JAMIESON, J.D., PALADE, G.E.:

Intracellular transport of secretory
proteins in the pancreatic exocrine cell.

I. Role of peripher elements of the golgi
complex.

II. Transport to condensing vacuoles and
zymogen granules.

J. Cell Biol. 34, 577 - 596

597 - 615 (1967)

KIM, S.K., HAN, S.S., NASJLETI, C.E.:

The fine structure of secretory granules
in submandibular gland of rat during early
postnatal development.

Anat. Rec. 168, 463 - 476 (1970)

KUMEGAWA, M., CATTONI, M., ROSE, G.G.:

An unusual droplet in submandibular gland
of new born mice.

J. Cell Biol. 33, 720 - 733 (1967)

LAWSON, K.A.:

The role of mesenchyme in the morphogenesis and functional differentiation of the rat salivary epithelium.

J. Embryol.exp. Morph. 27,3, 497-513 (1972)

LEBLOND, C.P.:

Distribution of PAS reactive carbohydrates in the adult rat.

Amer.J.Anat. 86, 1 - 50 (1950)

LEESON, C.R., JACOBY, F.:

An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during postnatal development and in the adult.

J. Anat. 93, 287 - 294 (1959 b)

MAJNO, G.:

Ultrastructure of the vascular membrane.

In: Handbook of Physiology, Sect.II,

Vol. 3 edit by W.F. Hamilton and P.H. Dow, Washington, D.C.: Amer. Physiol. Soc. 1965

MERKER, H.J.:

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in der Haut menschlicher Embryonen.

Z.Zellforsch. 53, 411 - 430 (1961)

Das elektronenmikroskopische Bild der Schleimsekretion in der menschlichen Nasenhöhle und ihre Beeinflussung durch Bisolvon. Deutsches Med. 18, 552 - 559 (1967)

MERKER, H.-J., STRUWE, K.:

Elektronenmikroskopische Untersuchungen
zum Problem der Sekretion der bindege-
webigen Interzellulärsubstanz.

Z. Zellforsch. 115, 212 - 225 (1971)

MORAL, H.:

Über die ersten Entwicklungsstadien der
Glandula submaxillaris.

Anat. Hefte 47, 277 - 382 (1913)

Zur Kenntnis von der Speicheldrüsenent-
wicklung der Maus.

I. Teil Glandula Submaxillaris.

Anat. Hefte 53, 351 - 679 (1915 - 16)

NESBITT, M.N., GARTLER, S.M.:

The application of genetic mosaicism to
developmental problems.

Ann. Rev. Genet. 5, 143 - 161 (1971)

NEUTRA, M., LEBLOND, C.P.:

Synthesis of the carbohydrate of mucus
in the golgi complex as shown by electron
microscope radioautography of the goblet
cells from rats injected with glucose- H^3 .

J. Cell Biol. 30, 119 - 136 (1966 a)

NEUTRA, M., LEBLOND, C.P.:

Radioautographic comparaison of the uptake of galactose- H^3 and glucose- H^3 in the golgi region of various cells secreting glycoproteins or mucopolysaccharides.
J. Cell Biol. 30, 137 - 150 (1966 b)

PEASE, D.C.:

Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport.
J. Biophys.Biochem.Cytol. 2/4 Suppl.,
203 - 213 (1956)

PORTER, K.R.:

Cell fine structure and biosynthesis of intercellular macromolecules.
Biophys.J. 4, 167 - 196 (1964)

POSPISILOVA-ZUZAKOVA, V.:

Morphogenese der Speicheldrüsen in der pränatalen Entwicklung der Ratte.
Biologia (Bratislava) 25/12, 861 - 867 (1970)

ROHR, H.P., JURUKOVA, Z.:

Beitrag zur Bildung bindegewebiger Matrix in glatten Muskelzellen. Elektronenmikroskopisch-autoradiographische Untersuchungen mit Prolin H^3 und Sulfat ^{35}S am Oestrogen-stimulierten Mäuseuterus.
Path. europ. 3, 571 - 578 (1968)

ROSS, R., BENDITT, E.P.:

Wound healing and collagen synthesis.

V. Quantitative electron microscope radioautographic observations of proline- H^3 utilisation by fibroblasts.

J.Cell Biol. 27, 83 (1965)

ROSS, R.:

The fibroblast and wound repair.

Biol. Rev. 43, 51 - 72 (1968)

SCHAFFER, J.:

Zur Histologie der Unterkieferspeicheldrüsen bei Insektivoren.

Z. wiss. Zool. 89, 1 - 27 (1908)

SCHNEYER, L.H.:

Secretory process in perfused excretory duct of rat submaxillary gland.

Am. J. Physiol. 215/3, 664 - 670 (1968)

SCHROEDER, T.E.:

The contractile ring. I. Fine structure of dividing mammalian (HeLa) cells and the effects of cytochalasin B.

Z. Zellforsch. 109, 431 - 449 (1970)

SHACKLEFORD, J.M., KLAPPER, C.E.:

Structure and carbohydrate histochemistry
of the mammalian salivary glands.

Am. J. Anat. 111, 25 - 33 (1962)

SHACKLEFORD, J.M., SCHNEYER, L.H.:

Ultrastructural aspects of the main excretory
duct of rat submandibular gland.

Anat. Rec. 169/4, 679 - 696 (1971)

SPOONER, B.S., WESSELLS, N.K.:

Effects of cytochalasin B upon microfilaments
involved in morphogenesis of salivary
epithelium.

Proc.Nat.Acad.Sci. U.S. 66/2, 360-364 (1970)

An analysis of salivary gland morphogenesis:
Role of cytoplasmic microfilaments and
microtubules.

Develop.Biol. 27, 38 - 54 (1972)

SPOONER, B.S., YAMADA, K.M., WESSELLS, N.K.:

Microfilaments and cell locomotion.

J. Cell Biol. 49, 595 - 613 (1971)

STORMONT, D.L.:

The salivary gland. (1932)

In Special Cytology Vol. 1, ed. by

E.V. Cowdry.

New York: Paul B. Hoeber

TAMARIN, A.:

Secretory cell alterations associates with
submaxillary gland duct ligation (1967)
In: Secretory mechanism of salivary glands.
By L.H. Schneyer and C.A. Schneyer, ed.
Academic Press, pp 220 - 237

TANDLER, B.:

Ultrastructure of human submaxillary gland.
II. The base of the strates duct cells.
J. Ultrastruct. Res. 9, 65 - 75 (1963)
Ultrastructure of the human submaxillary
gland.
III. Myoepithelium.
Z. Zellforsch. 68, 852 - 863 (1965)

WESSELLS, N.K., SPOONER, B.S., ASH, J.F., BRADLEY, M.O.,
LUDUENA, M.A., TAYLOR, E.L., WRENN J.T.,
YAMADA, K.M.:

Microfilaments in cellular and developmental
processes. Contractile microfilamente
machinery of many cell types is reversibly
inhibited by cytochalasin B.
Science 171, 135 - 143 (1971) Nr. 3967

YAMADA, K.M., SPOONER, B.S., WESSELLS, N.K.: Axon growth:
Roles of microfilaments and microtubules.
Proc.Nat. Acad.Sci. U.S. 66/4, 1206-1212
(1970)

YAMASHINA, S., BARKA, T.:

Localization of peroxylase activity in the
developing submandibular gland of normal
and isoproterenol-treated rats.

J. Histochem. Cytochem. 20/11, 855-872 (1972)

YOUNG, I.A., FRÖMTER, E., SCHÖGEL, E., HAMANN, K.F.,
SCHNEYER, L.H., SCHNEYER, C.A. eds.:

Microperforation and perfusion studies of
fluid and electrolyte transport in the
submaxillary gland.

In: Secretory mechanisms of salivary glands.
New York: Academic Press 11 - 31 (1967)

YOHRO, T.:

Development of secretory units of mouse
submandibular gland.

Z. Zellforsch. 110, 173 - 184 (1970)

Nerve terminals and cellular junctions in
young and adult mouse submandibular glands.

J. Anat. 108/3, 409 - 417 (1971)

Bildanhang



Abb. 1 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
13 Tage alten Maus
Epithelknospe zum Mesenchym (M) bereits durch eine
Basalmembran abgegrenzt (f); noch kein Lumen
erkennbar.

N = Nucleus

No = Nucleolus

I = Interzellularräume

Im Cytoplasma freie Ribosomen (0), einzelne Mito-
chondrien und Hohlräume des rauhen endoplasmati-
schen Reticulums (f).

Vergr.: 1:7000

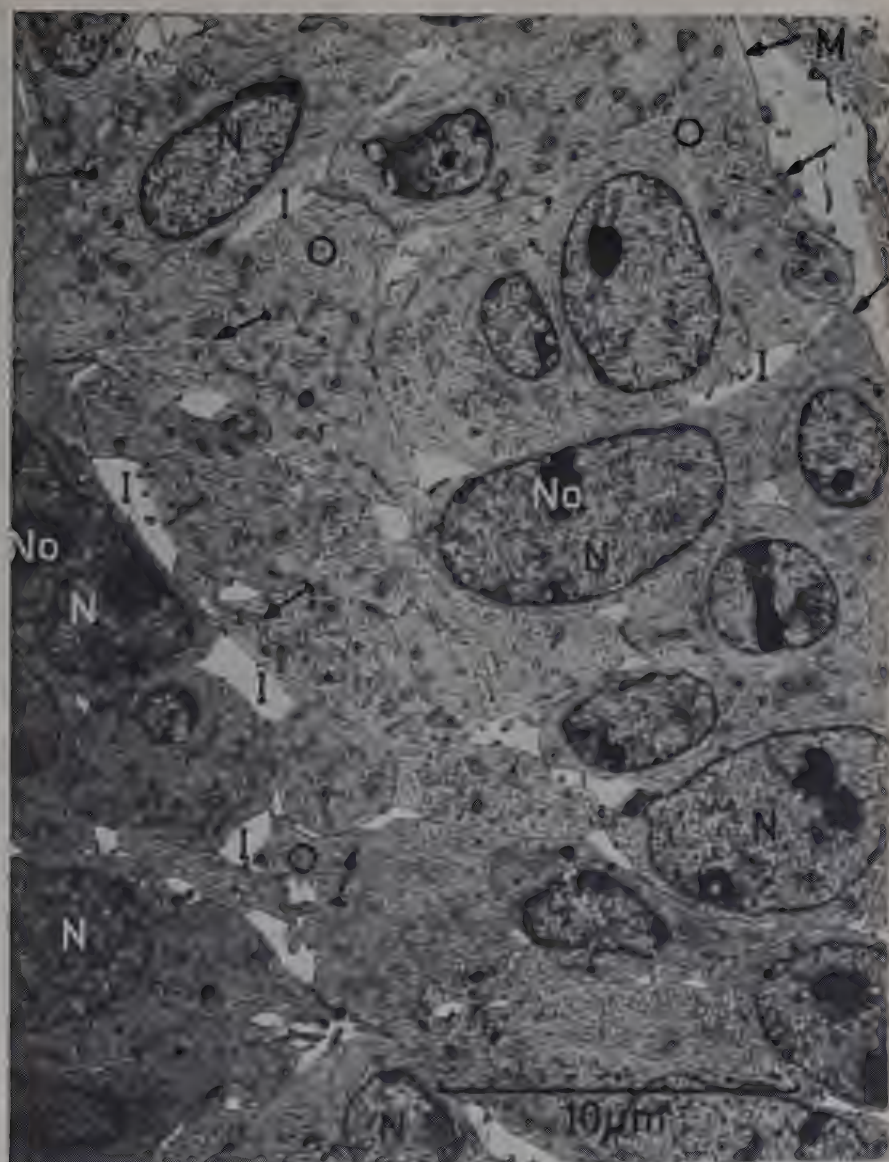


Abb. 2 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
13 Tage alten Maus.

Epithelnahe Blastem um eine Epithelknospe ("innerer Kapselbezirk"). Zwischen den dichtgepackten Blastemzellen (B) nur einzelne Interzellularräume (I). An einzelnen Stellen Einzelaxone (↑) und Axongruppen (↑).

Verg.: 1:8400

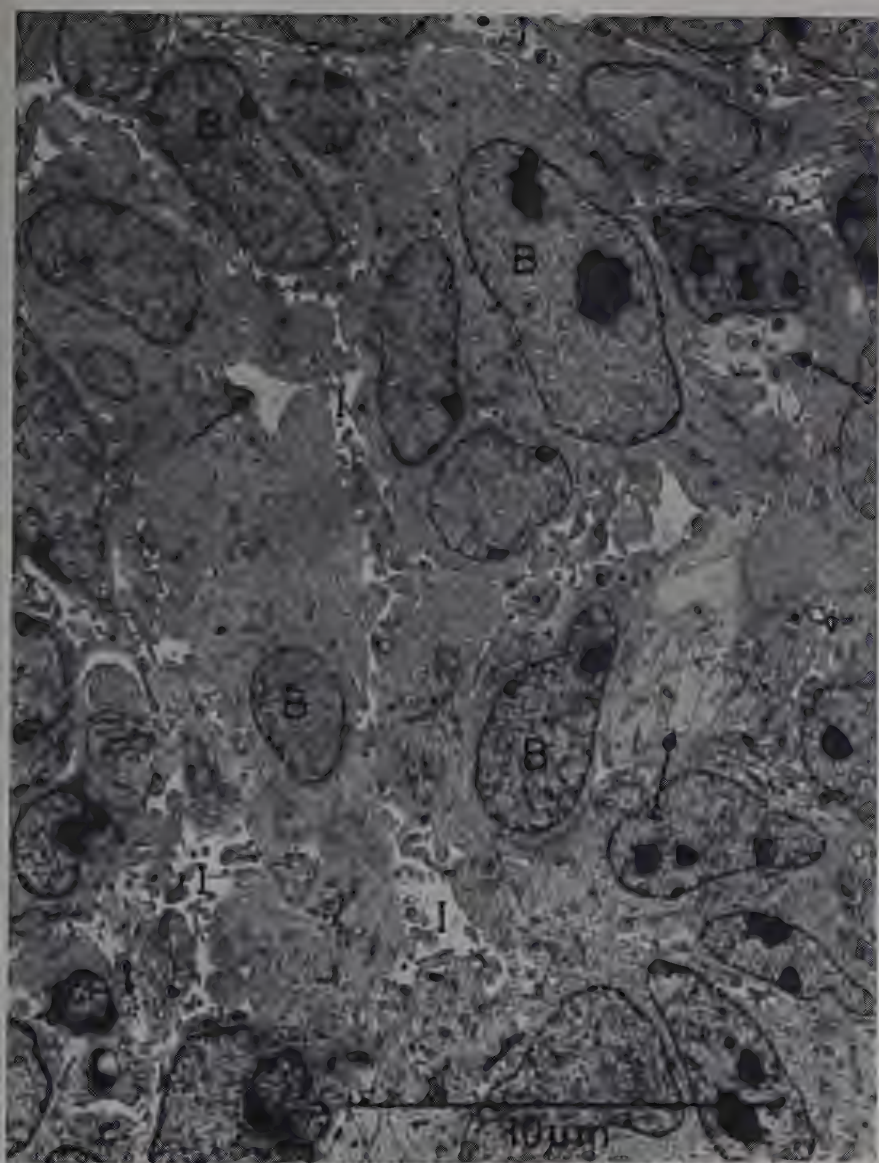


Abb. 3 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
13 Tage alten Maus.

Äußerer Kapselbezirk mit Zirkulärstellung der
bipolaren Mesenchymzellen (M) und weiteren
Interzellularräumen (I).

Verg.: 1:8400

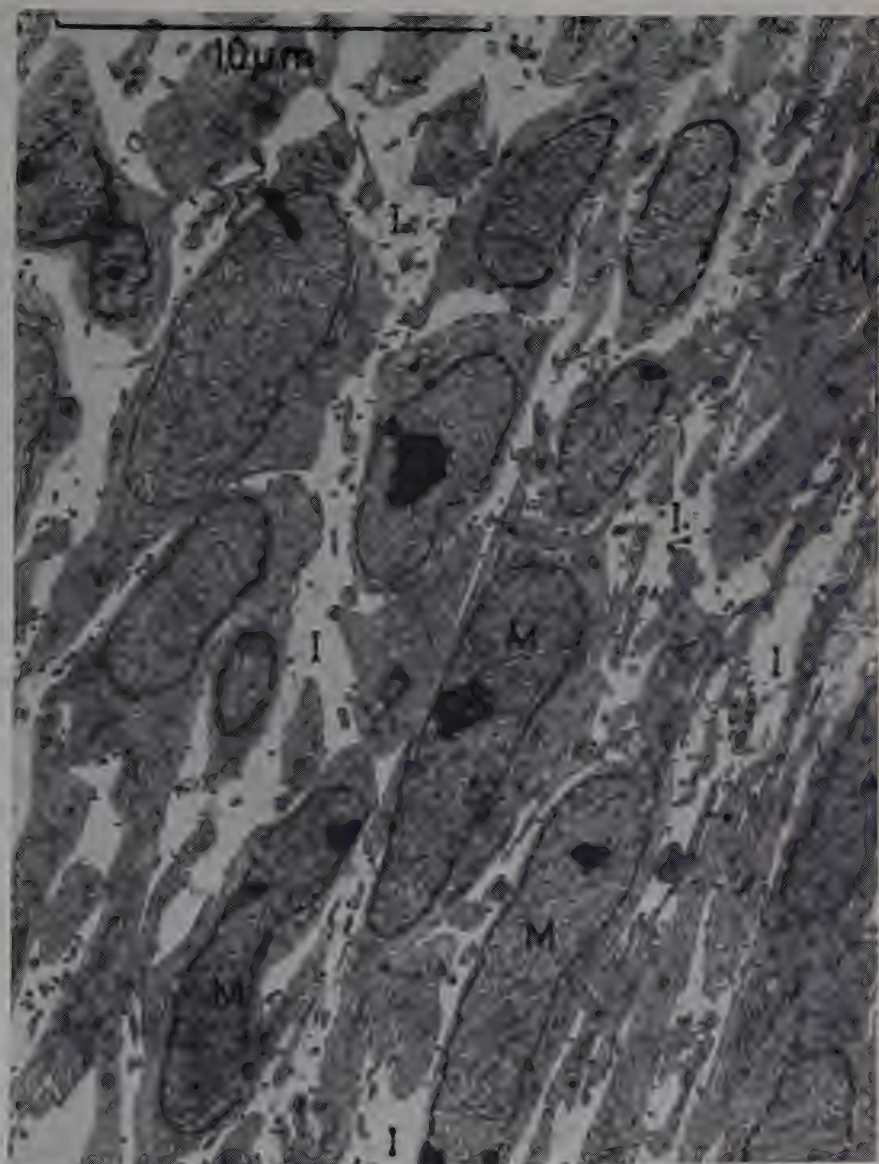


Abb. 4 Typisches embryonales Mesenchym in einiger Entfernung von der Anlage der Glandula submandibularis bei einem 13 - tägigen Embryo.

Polygonale (X) bis bipolare (~~X~~) Mesenchymzellen mit plumpen Fortsätzen und weitem Interzellularraum (I).

Vergr.: 1:8400

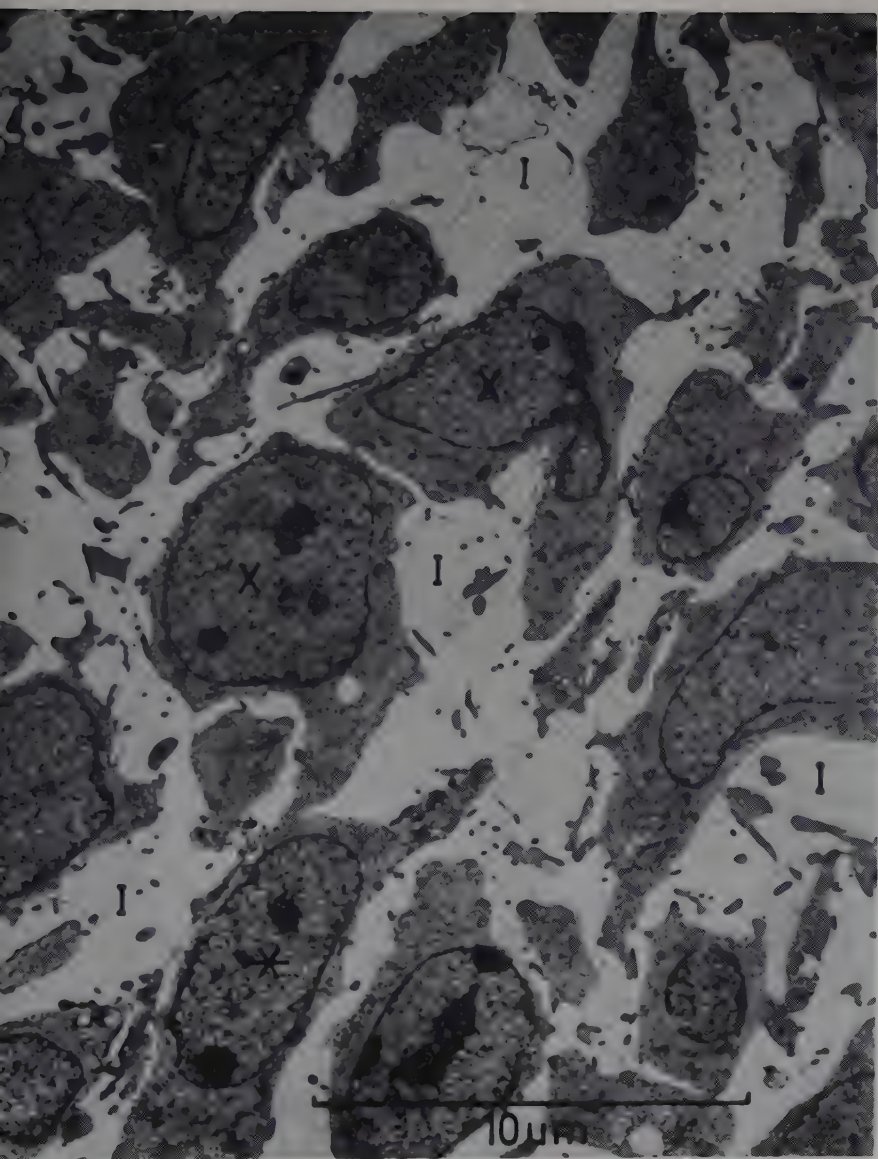
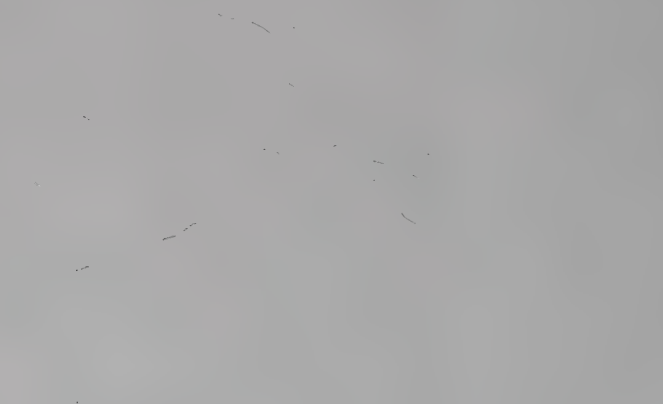


Abb. 5 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
13 Tage alten Maus.

Epithel=(E) - Mesenchym=(M) grenze mit deutlich
sichtbarer Basalmembran (↑) und Filament= bzw. Fi=
brillenbündel in einer Epithelbucht (X).

Verg.: 1:2100



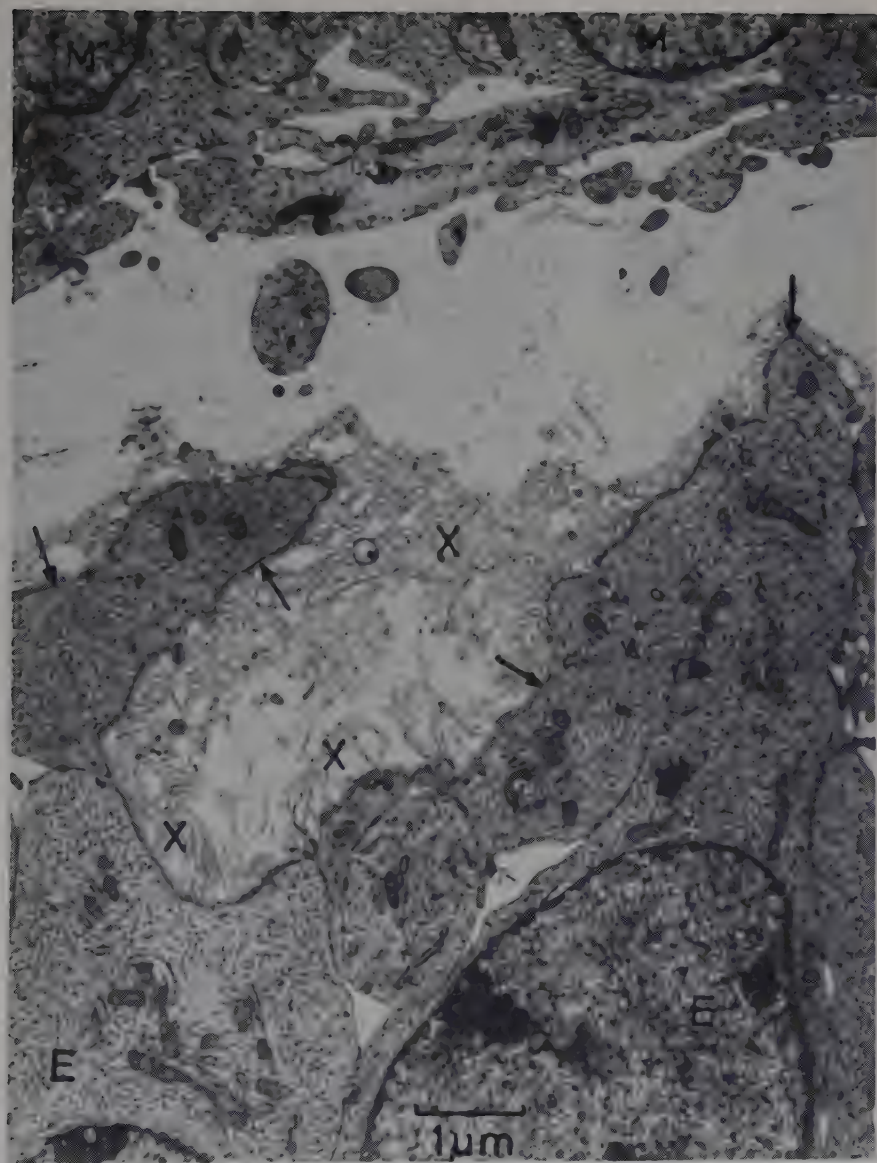


Abb. 6 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
15 Tage alten Maus.

Randbereich des lateralen Teiles der Epithelknospe.
Im Mesenchym polare, plattenförmige Fortsätze aus-
sendende Zellen (M); dazwischen weite Interzellular-
räume (I). Im Epithelverband eine Mitose in
Telophase (X) mit Schnürfurche (↑)

Verg.: 1:1400

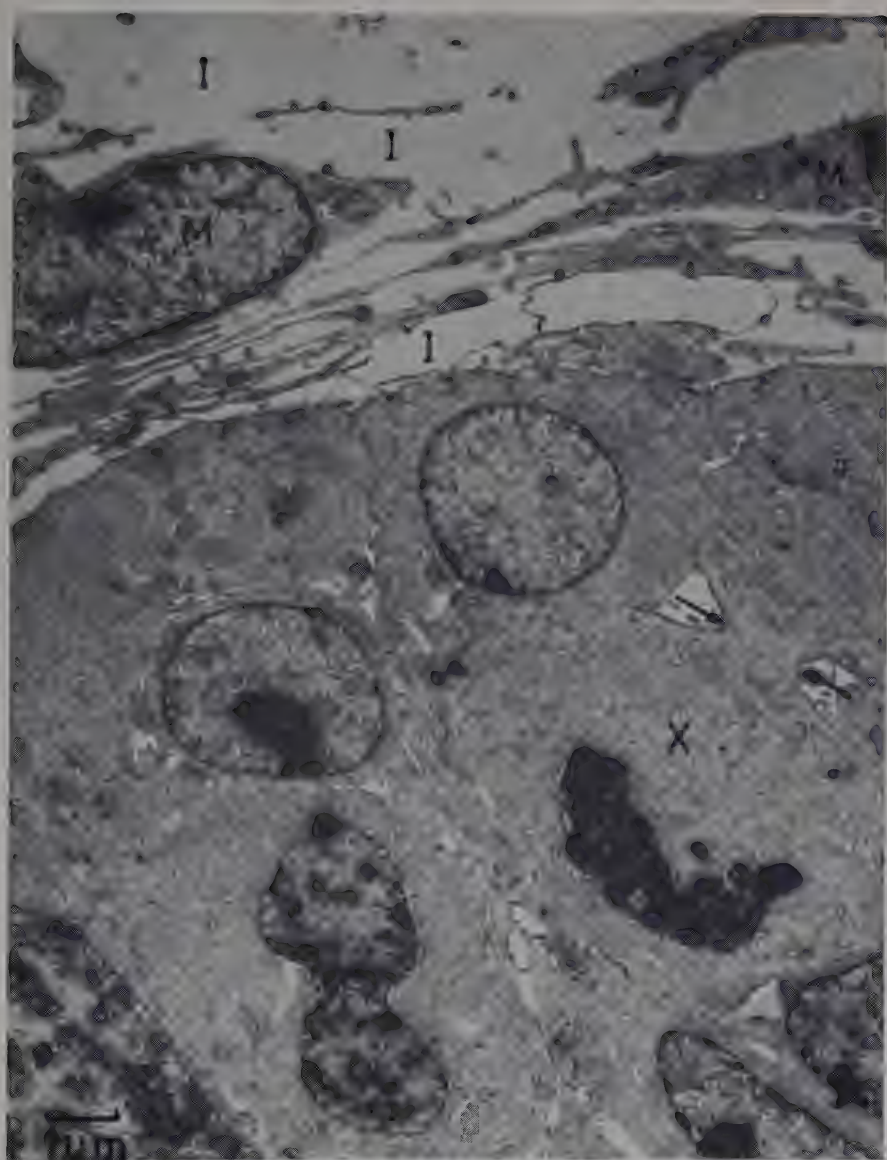


Abb. 7 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
15 Tage alten Maus.

Epithelknospe mit beginnender Teilung; in der
Einschnürung kollagene Strukturen (X) und ein
Mesenchymzellfortsatz (*).

T = Zellen in Telophase

L = Lumen

M = Mesenchymzellen bzw. Mesenchymzellfortsätze

I = mesenchymaler Interzellularspalt

Vergr.: 1:8400

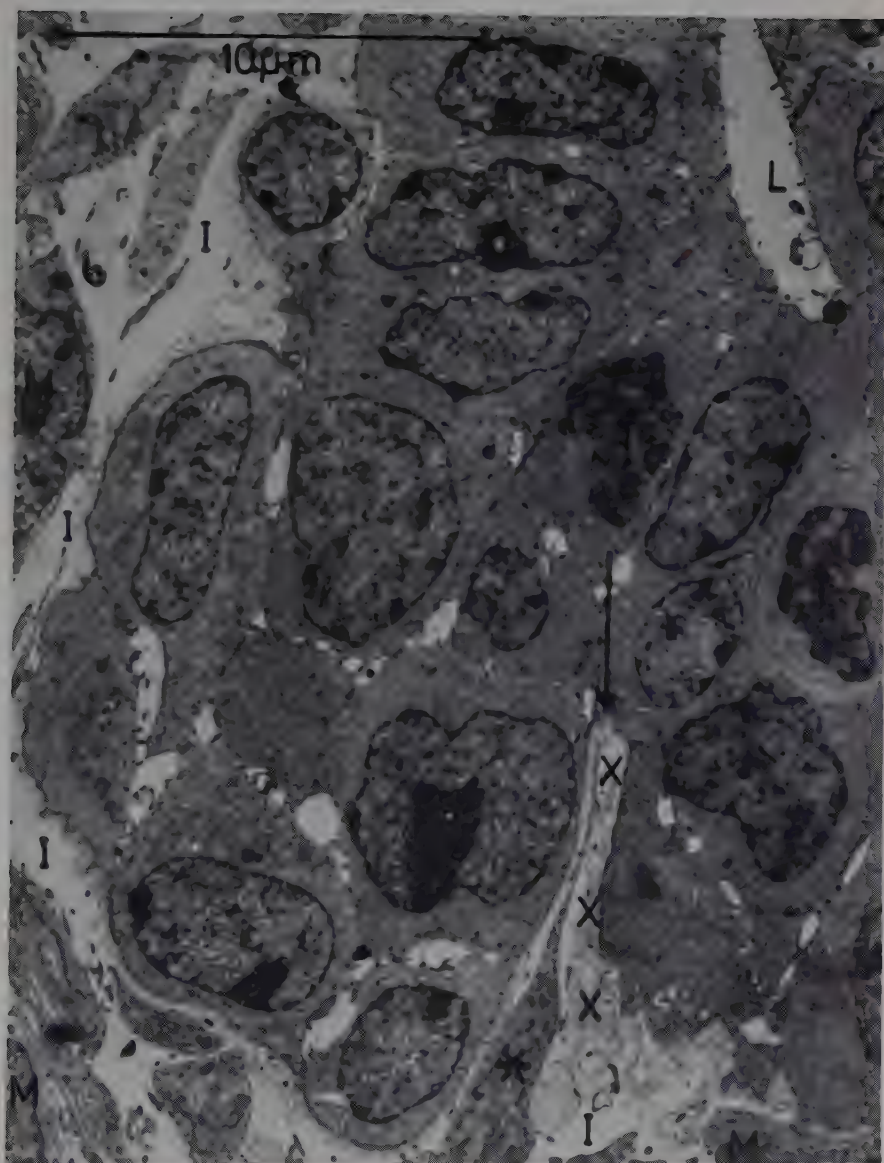


Abb. 8 Anlage der Glandula submandibularis bei einer
17 Tage alten Maus.
Erste Anzeichen einer funktionellen Aktivität.
ER = rauhes endoplasmatisches Reticulum
G = Golgiapparat
X = Mikrovesikel
✱ = multivesikuläre Einschlüsse
/ = Sekretgranula
S = grobkörnige Sekretmassen
Im Lumen (L) bereits einige Strukturen; an der
apikalen Zellmembran bereits typische Mikrovilli.
Vergr. 1:21000

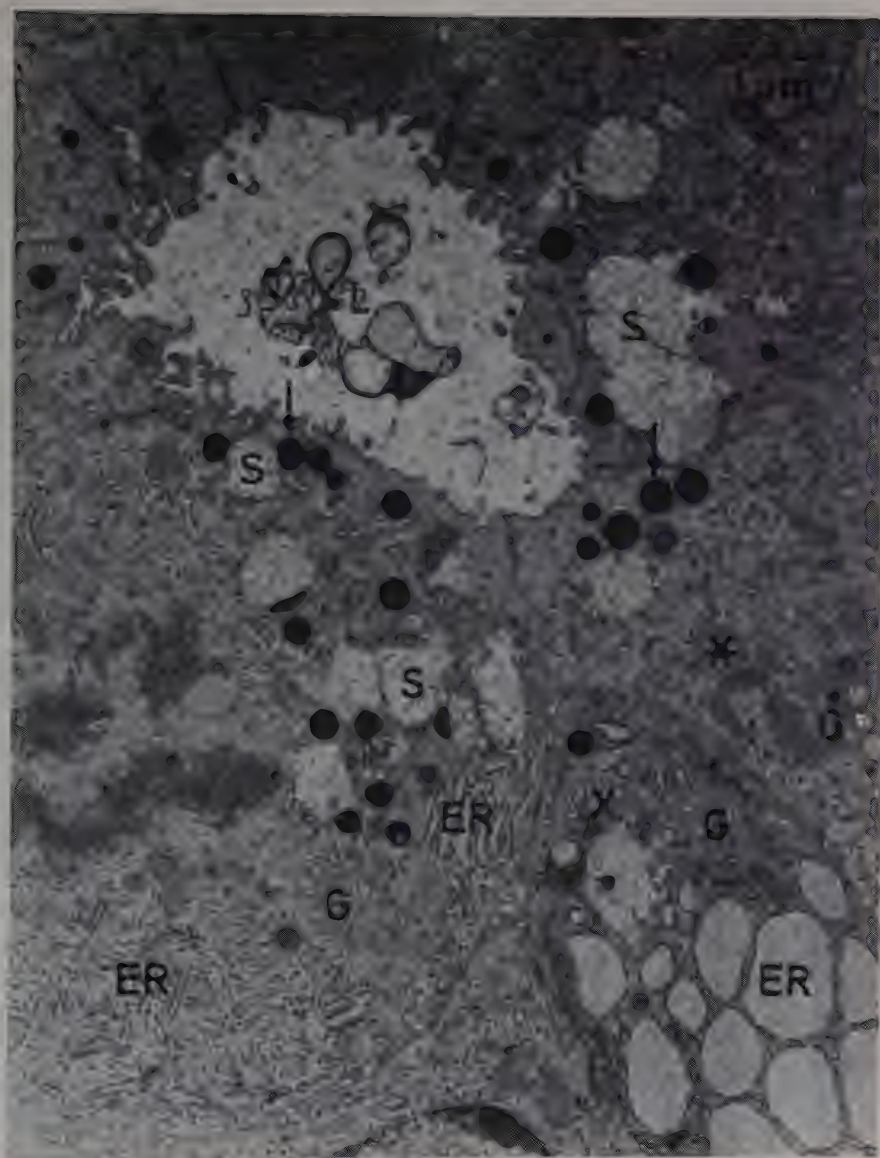


Abb. 9 Glandula submandibularis einer neugeborenen Maus
(6 Std.pp)

Querschnitt durch einen Acinus mit zentralem Lumen (L).
Epithelzellen vollgestopft mit Sekretgranula mit stark
aufgelockertem Inhalt (1), bzw. mit reichlich rauhem
endoplasmatischen Reticulum und dichteren Sekret=
granula (2).

Verg.: 1:8400

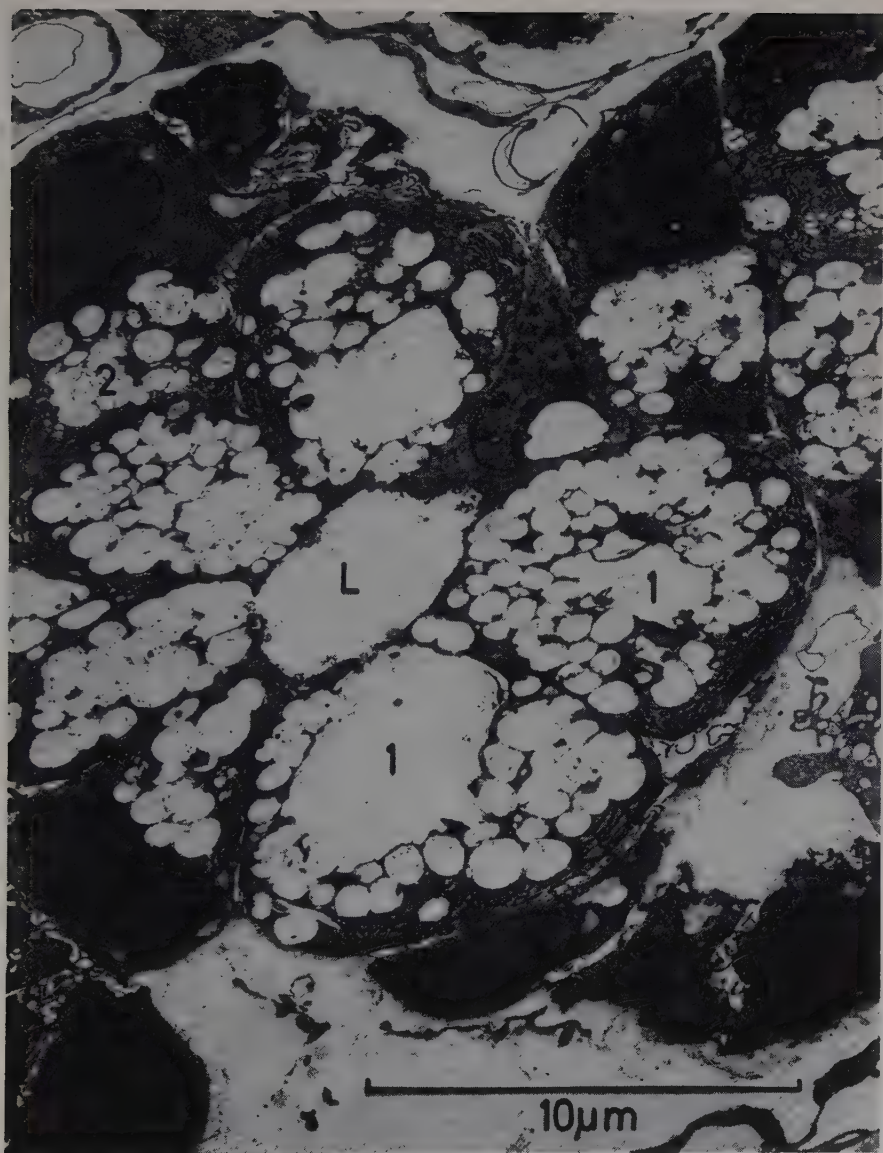


Abb. 10 Randbereich der Glandula submandibularis einer neugeborenen Maus (6 Std. pp) mit einer sich differenzierenden, noch nicht filamenthaltigen Myoepithelzelle (M).

↑ = Basalmembran

E = Drüsenepithelzelle mit reichlich rauhem endoplasmatischen Reticulum.

Vergr.: 1:35000

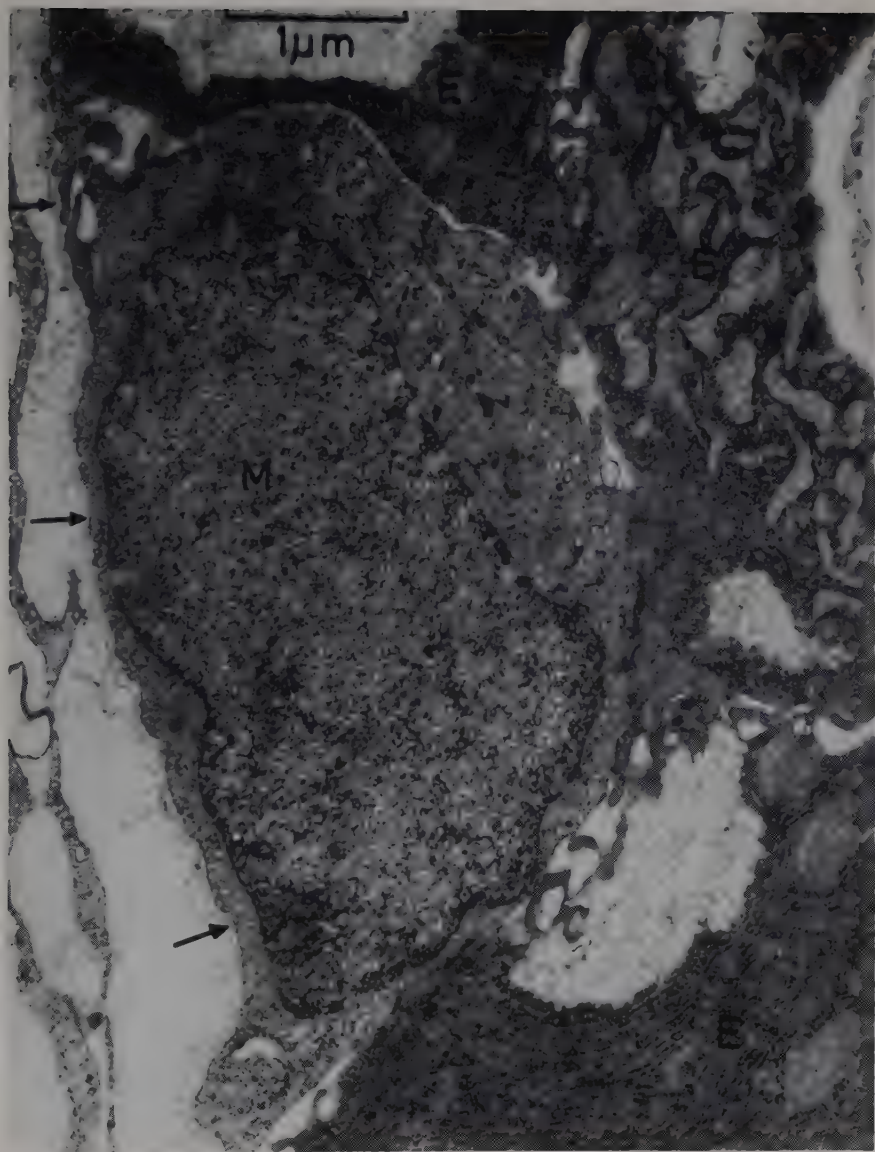
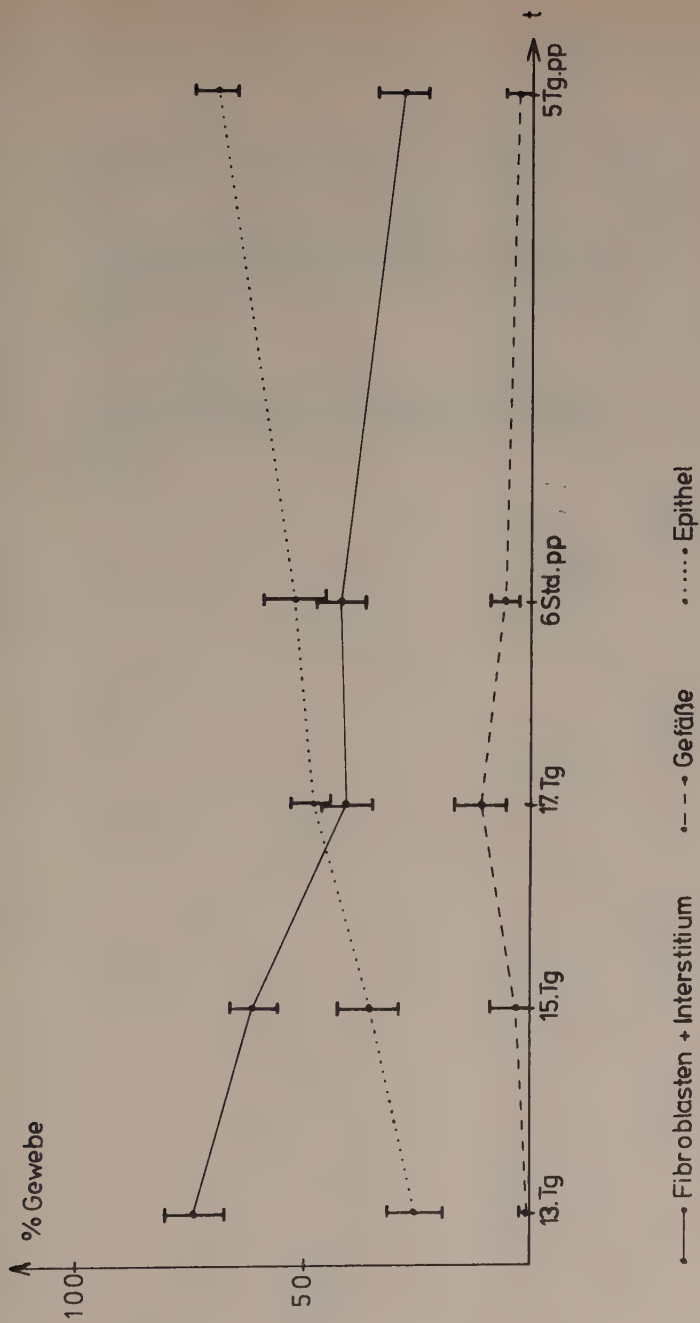


Abb. 11 Tangentialschnitt durch die Peripherie einer Glandula submandibularis von einer 5 Tage alten Maus. Gute Darstellung des rauhen endoplasmatischen Reticulums bei dieser Schnittrichtung. Verbindungen der Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Reticulums mit Sekretgranula (↑). Sekretgranula mit unterschiedlich dichtem Inhalt (X); in den dichteren Granula (✱) Musterbildung des Inhaltes.
Vergr.: 1:24500



Abb. 12 Bestimmung der Anteile von Fibroblasten mit
Interstitium, Gefäßen und Epithel nach der
Treffermethode mit Berücksichtigung der
Standardabweichung.



Herrn Professor Dr. med. Hans-Joachim Merker
danke ich herzlich für die Überlassung des Themas:

"DIE ENTWICKLUNG DER GLANDULA SUBMANDIBULARIS
Elektronenmikroskopische Untersuchungen an
pränatalen und frühen postnatalen Stadien
bei der Maus"

Den technischen Assistentinnen sei Dank für ihre stets
freundliche Hilfsbereitschaft und fröhliche Zusammen-
arbeit.

Lebenslauf

Am 26.2. 1947 wurde ich als Sohn des Physikers Dr. Ing. Hans Georg Möller und seiner Ehefrau Johanna, geb. Domrich in Hamburg geboren.

1949 übersiedelten wir nach Northeim, wo ich ab 1953 die Grundschule und ab 1957 das Gymnasium Corvinianum besuchte. 1966 legte ich am mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig das Abitur ab, zunächst mit dem Ziel, Medizin zu studieren.

Vom Oktober 1966 bis November 1967 folgte der Grundwehrdienst und gleich im Anschluß ein Semester Maschinenbau an der Technischen Hochschule in Braunschweig (WS 67/68) mit dem Wunsch, nach Abschluß des Studiums den Orgelbau zu erlernen.

Doch entschloß ich mich wieder zur Medizin, erhielt durch Leistungsprüfung die Zulassung zum Studium im WS 68/69 in Hamburg und legte im Herbst 1969 das Vorphysikum ab mit der Gesamtnote "sehr gut", im Frühjahr 1971 das Physikum mit der Gesamtnote "gut".

Im WS 1971/72 wechselte ich für drei Semester an die FU Berlin und fertigte meine Dissertation an.

Seit SS 1973 studiere ich an der Medizinischen Hochschule Lübeck, an der ich ab Mitte Juli 1974 das medizinische Staatsexamen ablegen werde.

Reinhard Möller

